

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALESSANDRA SNAK

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR
Neospora caninum E *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS LEITEIROS E
OCORRÊNCIA DE *N. caninum* E PARASITOS GASTROINTESTINAIS EM CÃES
DE PROPRIEDADES RURAIS DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL**

PALOTINA

2017

ALESSANDRA SNAK

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR
Neospora caninum E *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS LEITEIROS E
OCORRÊNCIA DE *N. caninum* E PARASITOS GASTROINTESTINAIS EM CÃES
DE PROPRIEDADES RURAIS DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde Animal, linha de pesquisa em Microbiologia Aplicada a Produção Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Cristina Osaki

PALOTINA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

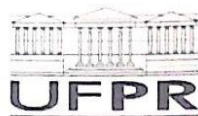
S669 Snak, Alessandra
Prevalência e fatores de risco associados a infecção por *Neospora caninum* e *Trypanosoma vivax* em bovinos leiteiros e ocorrência de *n. caninum* e parasitos gastrointestinais em cães de propriedades rurais do Oeste do Paraná, Brasil / Alessandra Snak. – Palotina, 2017. 119f.

Orientador: Silvia Cristina Osaki.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

1. Coproparasitológico. 2. Enteroparasitos.
3. Reação de Imunofluorescência Indireta. I. Osaki, Silvia Cristina. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.9

Ficha catalográfica elaborada por Aparecida Pereira dos Santos– CRB 9/1653



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor PALOTINA
Programa de Pós-Graduação CIÊNCIA ANIMAL

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de ALESSANDRA SNAK intitulada: **PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO POR *Neospora caninum* E *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS LEITEIROS E OCORRÊNCIA DE *N. caninum* E PARASITOS GASTROINTESTINAIS EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL**

sua APROVAÇÃO, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela

Palotina, 17 de Fevereiro de 2017.

SILVIA CRISTINA OSAKI
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

ANDERSON BARBOSA DE MOURA
Avaliador Externo (UDESC)

DAUTON LUIZ ZULPO
Avaliador Externo (PUC/PR)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Alessandra Snak, filha de Terezinha Aparecida de Quadros Snak e Delcio Roque Snak, nasceu na cidade de Cascavel, Paraná, no dia 04 de março de 1991.

Iniciou em março de 2009 o curso de Medicina Veterinária, na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, concluindo em dezembro de 2013.

Em março de 2014, iniciou no Programa de Residência Multiprofissional na área de Doenças Infecciosas e Parasitárias dos Animais, na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, concluindo em março de 2016.

Em fevereiro de 2016, iniciou no programa de pós graduação *stricto sensu* Ciência Animal, na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina.

“Deixe algum sinal de alegria, onde passes.”

Chico Xavier

Aos meus pais, Delcio e Terezinha,
por serem meus verdadeiros exemplos!
Aos meus avós, José e Tereza,
por sempre estarem presentes e dedicarem
grande parte de suas vidas às netas!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me desafiar constantemente em diferentes situações, fazendo com que eu me torne uma pessoa melhor.

Aos meus pais, Delcio e Terezinha, por confiarem em mim e me ensinarem o que realmente importa na vida, se cheguei até aqui foi por vocês. Agradeço as minhas irmãs, Cristiane e Aline, por serem meus exemplos de dedicação. E aos meus avós, José e Tereza por sempre estarem ao meu lado. A vocês agradeço também por toda a ajuda na realização do projeto, sendo na procura de propriedades, na entrega de laudos e até nos dias de chuva a noite com necropsia de fetos.

Agradeço à minha sempre orientadora, prof. Silvia, por ter me mostrado a beleza da pesquisa e feito eu me apaixonar pelos protozoários e pela epidemiologia. Ainda, por sempre confiar na minha capacidade, aceitar as minhas idéias malucas de projetos e por me mostrar o que é ser ética e profissional. Também, agradeço pela amizade, paciência, conselhos e por sempre estar e ficar do meu lado.

Agradeço a todos que me ajudaram de alguma forma na realização do projeto, principalmente ao Felipe G. Garcia por ter me ajudado a pensar, elaborar e executar todo o projeto. Agradeço também à Arielle, Tidi, Alessandro, João, Ana Smiderle, Ana Molinari, Karim, Alvaro, Eduardo Scherer, Luis Miguel, Isabel Pastore, Sibeli, Anna Zimmermann, Jéssica Schemmer, Priscila, Wellington, Liliane, Ricardo, Juliana, Filipe Cestari, Camila Smaniotto, Adriana Micheleto, prof. Nelson, prof. Adriana e os veterinários Alexandre, Gustavo, Marcos e Geovane.

Agradeço ainda, a todos meus amigos que não participaram do projeto mas sempre estavam e estão do meu lado me apoiando, principalmente a Natália, Heloísa, Jean, Viott, Flávia, Luciana, Mayra e Mauricio.

A todos os proprietários(as) que permitiram a coleta das amostras dos animais e abriram as portas da propriedade para a Universidade. Vocês foram fundamentais e essenciais.

À toda equipe e ao Laboratório de Patologia, por ceder espaço para as necropsias, inclusive a noite, nos fins de semana e férias. Ao Laboratório de Experimentação Avícola por fornecer as pinças e tesouras. Ao prof. Dr. Nelson e ao

Laboratório de Doenças Parasitárias por todo o suporte na realização dos exames coproparasitológicos dos cães. À prof. Dra. Luciana Flamenco por sempre permitir a utilização do laboratório, principalmente para as leituras das eletroforeses.

Agradeço ainda, aos Laboratórios externos. À Dra. Hilda Pena e toda a equipe do Laboratório de Parasitologia da FMVZ-USP, ao Prof. Dr. Luis Fernando Pita Gondim e toda a equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias da UFBA, à Prof. Dra. Lucienne e toda a equipe do Laboratório de Leptospirose da UEL e à prof. Dra. Julia e toda a equipe do Laboratório de Parasitologia da UFMG.

Por fim, agradeço à CAPES pela concessão de bolsa de estudo durante todo o período do mestrado.

RESUMO

Parasitos são seres que se beneficiam de um hospedeiro para sobreviver, podendo causar danos à saúde do animal. Em bovinos, os parasitos que acometem o sistema reprodutor possuem grande importância, principalmente pelos prejuízos econômicos que geram. O objetivo desse trabalho foi pesquisar a prevalência de *Neospora caninum* e *Trypanosoma vivax* em bovinos; *N. caninum* e parasitos gastrintestinais em cães; *N. caninum* em fetos bovinos, além de determinar os principais fatores de risco associados com os patógenos pesquisados em propriedades rurais de bovinocultura de leite da região Oeste do Paraná. Após a realização do cálculo de amostragem foram coletadas 600 amostras de sangue e 17 fetos bovinos, 163 amostras de sangue e 120 amostras de fezes de cães de propriedades rurais das cidades de Cascavel, Toledo, Marechal Cândido Rondon e Palotina, e aplicado um questionário epidemiológico. Para a detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães e bovinos foi realizada a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Para o diagnóstico de *T. vivax* em bovinos foi realizada a RIFI e esfregaço sanguíneo da capa leucocitária. Os Métodos de Willis-Mollay, Hoffman, Pons e Janer e Sheather foram utilizados para a detecção de ovos e/ou oo (cistos) de parasitos em amostras de fezes dos cães. Amostras do cérebro, coração e placenta dos fetos bovinos foram submetidas à técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o diagnóstico de *Neospora caninum*. Os resultados e os dados coletados a partir do questionário epidemiológico foram analisados através do programa EpiInfo. Das amostras de bovinos, 23,67% foram positivas para *N. caninum* e todas apresentaram resultado negativo para *T. vivax*. Em nove (52,94%) fetos foi possível amplificar material genético do *N. caninum*. As principais variáveis associadas com a infecção foram histórico de aborto, baixa produção de leite, criação extensiva e raça Jersey. Das 163 amostras de sangue de cães, 11,66% foram positivas para o *N. caninum*, não havendo correlação significativa entre os resultados da sorologia dos cães e dos bovinos. Das amostras fecais, 71,67% foram positivas para ao menos um parasito. Os mais encontrados foram *Ancylostoma* spp. (80,23%), *Trichuris vulpis* (20,93%), *Cystoisospora* spp. (17,44%) e *Giardia* spp. (8,14%). Também foram encontrados *Sarcocystis* spp., *Toxocara* spp., *Hymenolepis diminuta* e *Capillaria* spp. em um percentual menor. Pseudoparasitos como oocistos da família Adeleidae e *Eimeria* spp., e ovos da família Ascaridiidae também foram encontrados. De acordo com o gênero/espécie de parasito, associação foi verificada entre fezes pastosas e parasitismo por *Cystoisospora* spp. e *Sarcocystis* spp., histórico de verminose e *Trichuris vulpis*, e condições de vida, ou seja, se vivem soltos ou presos, para *Ancylostoma* spp., *Cystoisospora* spp., *Giardia* spp. e *Trichuris vulpis*.

Palavras-chave: aborto, coproparasitológico, enteroparasitos, PCR, RIFI

ABSTRACT

Parasites are beings that benefit from a host to survive, and can cause harm to the health of the animal. In cattle, the parasites that affect the reproductive system are of great importance, mainly for the economic damages that they cause. The objective of this study was to investigate the prevalence of *Neospora caninum* and *Trypanosoma vivax* in cattle; *N. caninum* and gastrointestinal parasites in dogs; *N. caninum* in bovine fetuses, in addition to the main risk factors associated with the pathogens researched in rural dairy cattle in the western region of Paraná. After the sampling calculation was performed, 600 blood samples and 17 bovine fetuses, 163 blood samples and 120 faecal samples of rural dogs were collected from the cities of Cascavel, Toledo, Marechal Cândido Rondon and Palotina, and also an epidemiological questionnaire was applied. For the detection of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle, an Indirect Immunofluorescence Reaction (IFAT) was performed. For the diagnosis of *T. vivax* in cattle, an IFAT and blood smear of the leukocyte layer was performed. The methods of Willis-Mollay, Hoffman, Pons and Janer and Sheather were used to detect eggs and/or oo(cysts) of parasites in samples of feces from dogs. Brain, heart and placenta samples from bovine fetuses were submitted to the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique for the diagnosis of *Neospora caninum*. The results and data collected from the epidemiological questionnaire were analyzed through the EpiInfo program. Of the bovine samples, 23.67% were positive for *N. caninum* and all showed negative results for *T. vivax*. In nine (52.94%) fetuses it was possible to amplify genetic material of *N. caninum*. The main variables associated with the infection were abortion history, low milk yield, extensive breeding and Jersey breed. Of the 163 dog blood samples, 11.66% were positive for *N. caninum*, with no significant correlation between the serology results of dogs and cattle. Of the fecal samples, 71.67% were positive for at least one parasite. The most sought after were *Ancylostoma* spp. (80.23%), *Trichuris vulpis* (20.93%), *Cystoisospora* spp. (17.44%) and *Giardia* spp. (8.14%). *Sarcocystis* spp., *Toxocara* spp., *Hymenolepis diminuta* and *Capillaria* spp. were also found in a lower percentage. Pseudoparasites such as oocysts of the family Adeleidae and *Eimeria* spp., and eggs of the Ascaridiidae family were found too. According to the genus/species of parasite, the association was verified between pasty faeces and parasitism by *Cystoisospora* spp. and *Sarcocystis* spp., history of verminosis and *Trichuris vulpis*, and living conditions, that is, if they live loose or trapped, for *Ancylostoma* spp., *Cystoisospora* spp., *Giardia* spp. and *Trichuris vulpis*.

Key words: abortion, coproparasitological, enteroparasites, IFAT, PCR

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	ESTRUTURAS DO <i>Neospora caninum</i> ; (A) TAQUIZOÍTO, (B) BRADIZOÍTO, (C) CISTO, (D) OOCISTO NÃO ESPORULADO, E (E) OOCISTO ESPORULADO COM DOIS ESPOROCISTOS (SETA) E QUATRO ESPOROZOÍTOS.....	23
FIGURA 2	- CICLO DE VIDA DO <i>Neospora caninum</i>	25
FIGURA 3	- <i>Trypanosoma vivax</i> EM ESFREGAÇO SANGUÍNEO CORADO COM PANÓTICO, AUMENTO DE 1000X	30
FIGURA 4:	CICLO <i>Trypanosoma vivax</i>	31
FIGURA 5	- OVOS/OOCISTOS/TROFOZOÍTO DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES. A) CÁPSULA OVÍGENA DE <i>Dipylidium caninum</i> (AUMENTO DE 400X); B) SETA PRETA, OVO DE <i>Ancylostoma</i> spp., SETA VERMELHA, OVO DE <i>Trichuris vulpis</i> (AUMENTO DE 400X); C) SETA PRETA, OVO DE <i>Ancylostoma</i> spp., SETA VERMELHA, OOCISTO DE <i>Cystoisospora</i> spp., SETA AZUL, OVO DE <i>Toxocara</i> spp. (AUMENTO DE 400X); D) TROFOZOÍTO DE <i>Giardia</i> spp. (AUMENTO 1000X); E) SETA PRETA, OVO DE <i>Ancylostoma</i> spp., SETA VERMELHA, OOCISTO DE <i>Cystoisospora</i> spp., SETA AZUL, OOCISTO CARACTERÍSTICO DE <i>Neospora caninum</i> / <i>Hammondia</i> spp. (AUMENTO DE 400X).....	35

CAPÍTULO I

FIGURA 1:	REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA <i>Neospora caninum</i> POSITIVA.....	55
FIGURA 2:	RESULTADO DAS TITULAÇÕES DA REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA <i>Neospora caninum</i> EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ.....	58
FIGURA 3:	RESULTADO DAS TITULAÇÕES DA REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA <i>Neospora caninum</i> EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DE CRIAÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ.....	60
FIGURA 4:	CORRELAÇÃO DOS RESULTADOS DAS PROPRIEDADES COM CÃES E BOVINOS SOROPOSITIVOS, PROPRIEDADES COM CÃES SOROPOSITIVOS, PROPRIEDADES COM BOVINOS SOROPOSITIVOS E O TOTAL DE PROPRIEDADES COLETADAS DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL.....	61
FIGURA 5:	GEL DE AGAROSE (1,5%) COM OS RESULTADOS DO MATERIAL AMPLIFICADO DE TECIDO DE FETOS DE BOVINOS ABORTADOS, APRESENTANDO FRAGMENTOS DE 337PB, COMPATÍVEL COM <i>Neospora caninum</i> . 1) MARCADOR MOLECULAR 1KB; 2), 5), 6), 8), 9), 11), 14) AMOSTRAS DE CAMPO POSITIVAS; 3), 4), 7), 10), 12), 13) AMOSTRAS DE CAMPO NEGATIVAS; 15) CONTROLE POSITIVO; 16) CONTROLE NEGATIVO.....	65

CAPÍTULO III

FIGURA 1: OVOS E CISTOS DE ENTEROPARASITOS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL; A) SETA CLARA: OVO DE *Ancylostoma* spp., SETA ESCURA: OVOS DE *Trichuris vulpis* (AUMENTO DE 400X); B) CISTOS DE *Giardia* spp. (AUMENTO DE 1000X).....88

FIGURA 2: PSEUDOPARASITOS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ. A) OVO DE PARASITO DA FAMÍLIA ASCARIDIIDAE (AUMENTO 400X); B) OOCISTO ESPORULADO E NÃO ESPORULADO DE ADELEIDAE. (AUMENTO 1000X); C) OOCISTO ESPORULADO DE *Eimeria* spp. (AUMENTO DE 1000X); D) OOCISTOS ESPORULADOS DE ADELEIDAE (AUMENTO DE 1000X)90

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TÉCNICAS SOROLÓGICAS PARA DETECÇÃO DE <i>N. caninum</i> EM ANIMAIS INFECTADOS	27
TABELA 2 - OCORRÊNCIA DE <i>Neospora caninum</i> EM BOVINOS DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL.....	28
TABELA 3 - OCORRÊNCIA <i>Trypanosoma vivax</i> EM BOVINOS DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL.....	34
TABELA 4 - FREQUÊNCIA DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM CÃES NO BRASIL.....	38

CAPÍTULO I

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DAS PROPRIEDADES E BOVINOS COLETADOS EM DIFERENTES CIDADES DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	53
TABELA 2: DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE SANGUE COLETADAS DE CÃES RESIDENTES EM PROPRIEDADES RURAIS DE CRIAÇÃO DE BOVINOS DE LEITE DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	54
TABELA 3: PREVALÊNCIA DE <i>Neospora caninum</i> EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	57
TABELA 4: OCORRÊNCIA DE <i>Neospora caninum</i> EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DE CRIAÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL.....	59
TABELA 5: FATORES DE RISCO RELACIONADOS COM <i>Neospora caninum</i> EM BOVINOS LEITEIROS DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL.....	63
TABELA 6: CORRELAÇÃO DA TITULAÇÃO DOS BOVINOS POSITIVOS PARA <i>Neospora caninum</i> E HISTÓRICO DE ABORTO EM PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	64
TABELA 7: RESULTADO DA REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE PARA <i>Neospora caninum</i> DE 17 FETOS BOVINOS COLETADOS DE PROPRIEDADES RURAIS NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	66

CAPÍTULO II

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DAS PROPRIEDADES E ANIMAIS COLETADOS EM DIFERENTES CIDADES DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	76
---	----

CAPÍTULO III

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO DE PROPRIEDADES E NÚMERO DE ANIMAIS EM QUE FORAM COLETADAS FEZES EM CADA CIDADE DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	85
TABELA 2: OCORRÊNCIA DE ENTEROPARASITOS EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL.....	87
TABELA 3: FREQUÊNCIAS DOS ENTEROPARASITOS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	91
TABELA 4: FATORES ASSOCIADOS COM ENTEROPARASITOS ENCONTRADOS EM AMOSTRAS DE FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL	94

LISTA DE ABREVIATURAS

μL – Microlitro

μm – Micrometros

μM – Micromolar

ADAPAR – Agência de Defesa Agropecuária do Paraná

AM – Amazonas

AST – Aspartato aminotransferase

BSA – Albumina do soro bovino

cm^3 – Centímetros cúbicos

CTAB – Brometo de Cetrimônio

d - Densidade

DEFF – *Design Effect*

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DNTP – Desoxirribonucleotídeos fosfatados

E – Especificidade

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA – Ensaio de imunoadsorção enzimática

F – Flagelo

g – Gramas

GO – Goiás

h – Horas

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

IgG – Imunoglobulina G

IHQ – Imunoistoquímica

IM – Membrana interna

IN - Indefinido

ISCOM – Complexo imunoestimulante

kb – Quilobases

L – Litros

L3 – Larvas de terceiro estágio

LAT – Teste de aglutinação em Latex

LPS – Lipopolissacarídeo

M – Molar

M. C. Rondon – Marechal Cândido Rondon

MA – Maranhão

mg – Miligramas

MG – Minas Gerais

MgCl₂ – Cloreto de Magnésio

min – Minutos

mL – Mililitros

mm – Milímetros

mM – Milimolar

MS – Mato Grosso do Sul

MT – Mato Grosso

Na₂CO₃ – Carbonato de Sódio

Na₂HPO₄ – Fosfato Dissódico

NaCl – Cloreto de Sódio

NaH₂PO₄ – Fosfato Monossódico

NaHCO₃ – Bicarbonato de Sódio

NAT – Teste de Aglutinação do Neospora

Nc-1 – Cepa isolada de *Neospora caninum* 1

Nc-Bahia – Cepa isolada de *Neospora caninum* Bahia

nested-PCR – Dupla reação em Cadeia pela Polimerase

NI – Não identificado

NI – Não informado

Nº – Número

NR – Não realizado

NS – Não significativo

°C – Grau celsius

OM – Membrana externa

OR – Odds Ratio

OS – Espaço periplasmático

p – Probabilidade de significância

PA – Pará

PB – Paraíba
pb – Pares de base
PBS – Tampão fosfato salino
PCR – Reação em cadeia pela Polimerase
PE – Pernambuco
PG – Peptidoglicano
PI – Piauí
pmol – Picomol
PR – Paraná
RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta
RIT – Teste de imunocromatografia rápida
RPM – Rotações por minuto
RS – Rio Grande do Sul
S – Sensibilidade
SAM – Soroaglutinação microscópica
SC – Santa Catarina
seg – Segundos
sp – Espécie
SP – São Paulo
Taq – DNA polimerase termoestável
TE – Tampão de eluição
Tris-Cl – Cloreto de Trisaminometano
Tris-HCl – Hidroclorato de Trisaminometano
U – Unidade
UF – Unidade da Federação
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VAT – Tipo Antigênico Variável
X – Vezes

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	20
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	<i>Neospora caninum</i>	21
2.1.1	Estrutura e ciclo biológico.....	22
2.1.2	Patogenia e sinais clínicos	25
2.1.3	Diagnóstico laboratorial.....	26
2.1.4	Distribuição.....	28
2.2	<i>Trypanosoma (Duttonella) vivax</i>	29
2.2.1	Estrutura e ciclo biológico.....	29
2.2.2	Patogenia e sinais clínicos	31
2.2.3	Diagnóstico laboratorial.....	32
2.2.4	Distribuição.....	33
2.3	PARASITOS GASTROINTESTINAIS EM CÃES	34
2.3.1	Sinais clínicos.....	37
2.3.2	Diagnóstico laboratorial.....	37
2.3.3	Distribuição.....	38
3	REFERÊNCIAS	39
4	OBJETIVOS	49
4.1	OBJETIVO GERAL	49
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
CAPÍTULO I: <i>Neospora caninum</i> EM FÊMEAS DE BOVINOS LEITEIROS E EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL: PREVALÊNCIA E ESTUDO DOS FATORES DE RISCO		50
1.	INTRODUÇÃO.....	51
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.	CONCLUSÃO	67
5.	REFERÊNCIAS	68

CAPÍTULO II: ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE <i>Trypanosoma vivax</i> EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL.....	73
1. INTRODUÇÃO.....	74
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	75
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4. CONCLUSÃO	79
5. REFERÊNCIAS	80
CAPÍTULO III: OCORRÊNCIA DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM CÃES E ESTUDO DE FATORES DE RISCO EM PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL	83
1. INTRODUÇÃO.....	84
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	85
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
4. CONCLUSÃO	95
5. REFERÊNCIAS	95
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99
6 REFERÊNCIAS.....	101
ANEXOS.....	116

1 INTRODUÇÃO GERAL

A pecuária leiteira está distribuída por todo o território brasileiro, porém não existe um padrão de produção, ou seja, há propriedades muito tecnificadas com alta produção de leite diário e propriedades de subsistência onde a produção é pequena. A maioria das propriedades produtoras de leite no Brasil são caracterizadas como familiares de pequena e média produção (ZOCCAL et al., 2008).

A bovinocultura de leite vem crescendo cada vez mais, atualmente o Brasil é o quinto maior produtor de leite do mundo, atrás somente da União Europeia, Índia, Estados Unidos e China. Os principais Estados produtores de leite são Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná, respectivamente, sendo a região sul a maior produtora de leite do país (IBGE, 2016).

No Estado do Paraná a região Oeste se destaca como a maior produtora do Estado, nessa região três cidades (Marechal Cândido Rondon, Cascavel e Toledo) possuem uma importância maior, pois estão entre as 15 cidades com maior produção de leite do país (IBGE, 2016).

Apesar do Brasil ser um grande produtor de leite, a produção é baixa quando comparada com o número de bovinos, ou seja, cada bovino produz uma quantidade muito pequena de leite (IBGE, 2016). Um dos principais fatores que contribuem para essa baixa produção, além dos genéticos, são os reprodutivos. A incidência de abortos, natimortos, reabsorção embrionária e repetição de cio contribuem significativamente para a diminuição da produção de leite por vaca durante um ano (DE VRIES, 2006).

Há diversas causas para os problemas reprodutivos em bovinos, podendo ser resultantes da infecção por patógenos ou causas não infecciosas. As principais são: estresse térmico, deficiência nutricional, micotoxinas, *Neospora caninum*, *Leptospira* spp., *Campylobacter* spp., *Brucella abortus*, *Tritrichomonas foetus*, *Trypanosoma vivax*, Herpesvirus Bovino Tipo 1, Vírus da Diarreia Viral Bovina, entre outros (HURTADO et al., 2016).

A maioria das propriedades rurais de bovinocultura de leite no Brasil, também possui cães, esses sendo de guarda, pastoreio ou companhia. Eles podem transmitir diversas doenças, principalmente através das fezes, para o ser humano e

para os animais, como os bovinos (ROBERTSON et al., 2000; GOODSWEN et al., 2013; CURI et al., 2016).

Os cães são os principais responsáveis pela transmissão horizontal do *Neospora caninum* para os bovinos, patógeno que é responsável por inúmeros prejuízos para a bovinocultura de leite e de corte no país, pois o principal sinal clínico é o aborto (GOODSWEN et al., 2013). Já para os humanos, os cães podem transmitir através das fezes uma série de agentes zoonóticos, como os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. e os helmintos *Ancylostoma* spp. (conhecida como larva *migrans* cutânea) e *Toxocara* spp. (conhecida como larva *migrans* visceral) (CURI et al., 2016).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Neospora caninum*

Neospora caninum é um protozoário do Filo Apicomplexa (DUBEY et al., 1988a), seu primeiro relato foi em 1984, quando Bjerkas et al., na Noruega, descreveram casos de cães com sinais neurológicos e com presença de cistos teciduais no sistema nervoso central com morfologia distinta dos cistos do *Toxoplasma gondii*. Até então o *Neospora caninum* era confundido com o *T. gondii*. Em 1988, o *Neospora caninum* foi reconhecido como nova espécie com sinais clínicos mais graves que o *T. gondii* para cães (DUBEY et al., 1988b).

Em bovinos, o protozoário foi diagnosticado primeiramente por Parish et al. (1987) e O'Toole e Jeffrey (1987) em tecidos do sistema nervoso central de um bezerro, porém o diagnóstico definitivo só ocorreu em 1989 quando Lindsay e Dubey desenvolveram um teste imunoistoquímico (IHQ) para identificar o *N. caninum* em tecidos, confirmando a infecção pelo protozoário nos cortes histológicos do estudo de Parish et al. (1987).

Ainda em 1989, foi relatado o primeiro surto de abortamento em rebanho de bovinos associado à neosporose, através da identificação do protozoário utilizando a IHQ no sistema nervoso central dos fetos (THILSTED e DUBEY, 1989). Logo após,

em 1992, foi demonstrado que a vaca transmite o protozoário para o feto através da transmissão transplacentária, gerando o aborto (DUBEY et al., 1992).

Em 1998 os cães foram identificados como hospedeiro definitivos, sendo comprovado com a realização de um experimento onde os cães eliminaram oocistos do protozoário após se alimentarem com tecidos de camundongos contendo cistos de *N. caninum* (MCALLISTER et al., 1998). A transmissão horizontal do protozoário só foi compreendida em 1999 quando Marez et al. demonstraram que os bovinos podiam se infectar ingerindo oocistos de *N. caninum* e em 2001, quando Dijkstra et al. demonstraram que os cães eliminavam oocistos do protozoário após ingerirem placenta de vacas soropositivas.

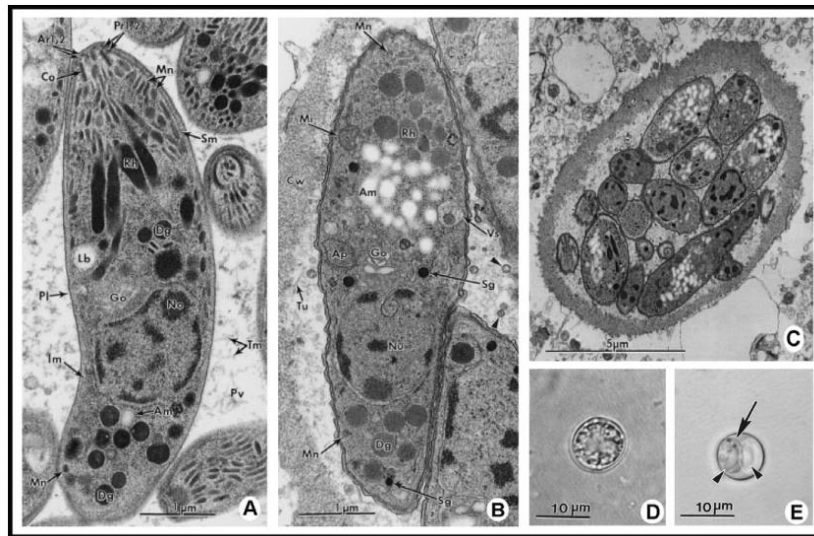
Além de infectar cães e bovinos, esse protozoário pode infectar diversas espécies de animais como felinos, suínos, ovinos, equinos, búfalos, raposas, coiotes, lobos, veados, camelos, psitacídeos, entre outros, porém ainda não está totalmente clara a importância dessas espécies no ciclo do protozoário (DONAHOE et al., 2015).

2.1.1 Estrutura e ciclo biológico

Neospora caninum é um protozoário heteroxeno, ou seja, precisa de dois hospedeiros para completar o ciclo. Os hospedeiros definitivos são os cães/canídeos silvestres, onde ocorre a reprodução sexuada do parasito, e os hospedeiros intermediários, onde ocorre a reprodução assexuada, os bovinos são considerados os de maior importância, porém destacam-se outros como ovinos, caprinos, aves e herbívoros silvestres (DUBEY e SCHARES, 2011; GOODSWEN et al., 2013).

O ciclo de vida possui três estágios infecciosos, os taquizoítos, os bradizoítos que estão localizados dentro dos cistos e os esporozoítos que estão no interior dos oocistos (FIGURA 1) (DUBEY et al., 2002). Essas estruturas já foram estudadas por diversos autores e todas estão relacionadas com a transmissão do parasito (GOODSWEN et al., 2013; DONAHOE et al., 2015).

FIGURA 1 - ESTRUTURAS DO *Neospora caninum*; (A) TAQUIZOÍTO, (B) BRADIZOÍTO, (C) CISTO, (D) OOCISTO NÃO ESPORULADO, E (E) OOCISTO ESPORULADO COM DOIS ESPOROCISTOS (SETA) E QUATRO ESPOROZOÍTOS.



FONTE: Goodswen et al. (2013).

Oocistos não esporulados são eliminados nas fezes dos canídeos, e medem cerca de $11,7 \times 11,3 \mu\text{m}$. A eliminação acontece cerca de cinco ou mais dias após a ingestão de tecido contendo cistos do protozoário. O oocisto só se torna infectante após a esporulação, que acontece por esporogonia, quando há temperatura, umidade e oxigenação adequada (cerca de 24-48h). O oocisto esporulado possui dois esporocistos e oito esporozoítos (quatro em cada esporocisto) (DUBEY et al., 2007).

Após a ingestão dos oocistos pelos hospedeiros intermediários, os esporozoítos são liberados no trato gastrointestinal, esses invadem as células do epitélio intestinal, leucócitos e fibroblastos, transformam-se em taquizoítos e multiplicam-se, espalhando-se por todo o organismo do hospedeiro (GOODSWEN et al., 2013)

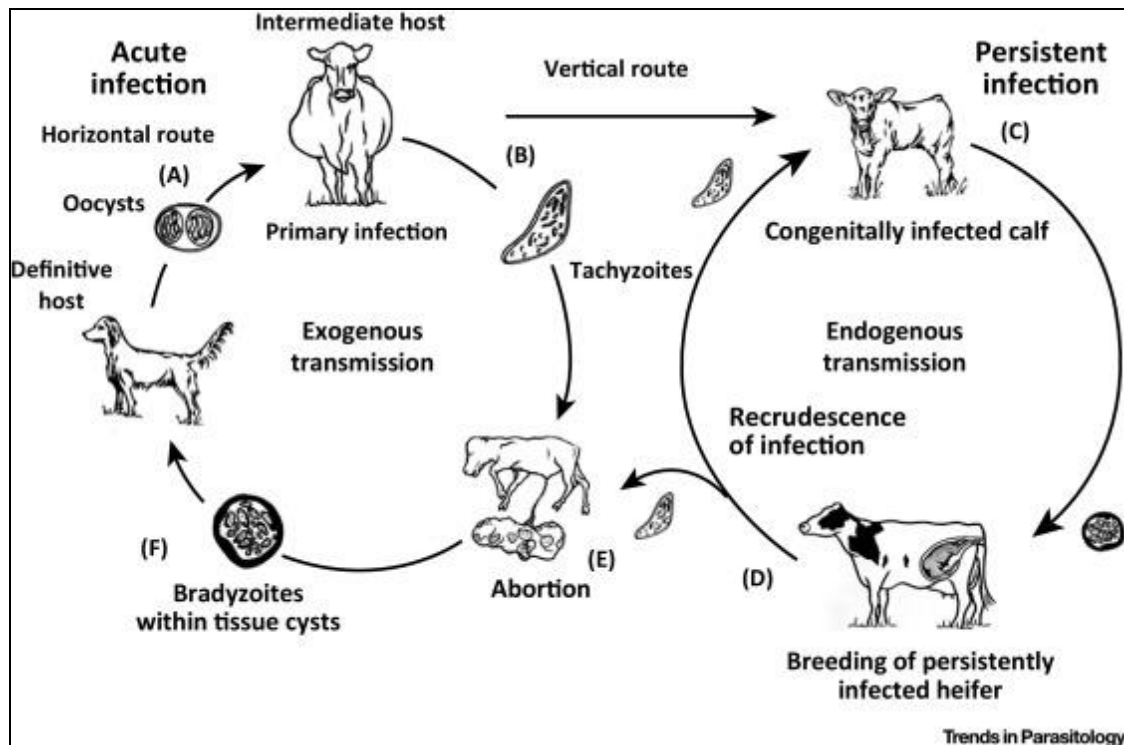
Os taquizoítos medem cerca de $3-7 \times 1-5 \mu\text{m}$, dependendo do estágio de divisão, eles são ovóides, lunares ou globulares. Invadem células formando um vacúolo parasitífero no citoplasma, onde vão replicar por endodiogenia (um processo de desenvolvimento assexuado) e podem ser encontrados em macrófagos, endotélio vascular, hepatócitos, células musculares, células neurais e fibroblastos (DUBEY et al., 2002). Estão relacionados principalmente com os sinais clínicos da doença, pois causam destruição de tecido e resposta inflamatória. Cada taquizoíto invade cerca de 20 células antes de se transformar em um bradizoíto, após formam-

se os cistos e inicia outra fase do desenvolvimento assexuado do protozoário (GOODSWEN et al., 2013; MONNEY e HEMPHILL, 2014).

Os bradizoítos possuem cerca de 6-8 x 1-1,8µm de tamanho e se multiplicam lentamente por endodiogenia, estão envoltos por um cisto geralmente circular com até 107µm de parede lisa com 4µm de espessura. Esses são encontrados principalmente no sistema nervoso central e na musculatura do hospedeiro intermediário, podendo persistir por toda a vida sem causar manifestações clínicas (MONNEY e HEMPHILL, 2014; MCALLISTER, 2016).

O ciclo de vida do parasito é completado quando o hospedeiro definitivo ingere tecido contendo os cistos do protozoário, então os bradizoítos são liberados no intestino delgado, invadindo células epiteliais e iniciando a fase sexuada com a formação de oocistos não esporulados, que são eliminados nas fezes (FIGURA 2) (MONNEY e HEMPHILL, 2014).

Outra forma de transmissão é a vertical, onde a mãe infectada acaba transmitindo o protozoário para o feto. Há duas formas de transmissão para o feto, a forma exógena e a forma endógena. A primeira acontece quando o hospedeiro se infecta durante a gestação, e os taquizoítos acabam migrando através da corrente circulatória para a placenta, atingindo o feto, podendo gerar aborto ou o nascimento de um bezerro congenitamente infectado. Já a forma endógena é devido à reativação e reconversão de bradizoítos em taquizoítos durante a gestação, geralmente acontece devido às alterações imunológicas e hormonais que ocorrem durante essa fase no hospedeiro intermediário. Essa é a forma mais comum de transmissão e está associada com a manutenção da doença na propriedade, visto que cerca de 95% das vacas soropositivas irão gerar abortos ou bezerros soropositivos (MCALLISTER, 2016).

FIGURA 2 - CICLO DE VIDA DO *Neospora caninum*

FONTE: Guido et al. (2016).

2.1.2 Patogenia e sinais clínicos

A replicação dos tachizoítos produzem lesões necróticas e morte celular, isso pode gerar doença neuromuscular nos hospedeiros intermediários, devido à destruição de um número grande de células neurais (BUXTON et al., 2002).

A maioria dos canídeos são assintomáticos ou possuem diarreia autolimitante após a infecção, porém como eles podem ser hospedeiros intermediários além de definitivos, os sinais podem estar relacionados com lesões no sistema nervoso central, como paresia dos membros posteriores que progride para paralisia. Entretanto, devido à encefalomielite os sinais neurológicos podem ser variáveis (LINDSAY et al., 1999; DONAHOE et al., 2015)

O aborto em bovinos geralmente ocorre entre o quinto e sétimo mês de gestação, porém ele pode acontecer do quarto mês até o fim da gestação, podendo ainda, nascerem bezerros fracos que vêm a óbito logo após o nascimento ou normais congenitamente infectados. São vários os motivos que podem desencadear o aborto, um deles é a lesão causada pela replicação dos tachizoítos no sistema nervoso central e coração do feto, além da placenta, interferindo no fornecimento de oxigênio e nutrientes ao feto. O aborto, também pode estar associado com a

liberação de citocinas pró-inflamatórias e a resposta imune tipo Th1 na interface materno-fetal (CANTÓN et al., 2014; MCALLISTER, 2016).

2.1.3 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico pode ser feito através de técnicas sorológicas, como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), Teste de Aglutinação do Neospora (NAT), *Immunoblotting*, Teste de Imunocromatografia Rápida (RIT) e Teste de Aglutinação em Latex (LAT). Ainda pode ser através de métodos moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), métodos de histopatologia, Imunoistoquímica (IHQ) e isolamento, podendo utilizar cultivo celular, camundongos ou gerbils (DUBEY, 2003; ORTEGA-MORA et al., 2006; GUIDO et al., 2016).

O diagnóstico sorológico é uma importante forma de investigação, principalmente epidemiológica da infecção, além de servir como método de triagem e rastreamento da doença na propriedade. Para o *N. caninum* é o principal método de diagnóstico *ante-mortem* dos animais, porém os métodos existentes variam em sensibilidade e especificidade (TABELA 1) (GUIDO et al., 2016).

No diagnóstico utilizando a histopatologia é importante não avaliar somente a infecção fetal, mas também a extensão e severidade das lesões no feto (JENKINS et al., 2002). As principais lesões microscópicas encontradas no feto são: encefalite necrosante multifocal não supurativa, miocardite não supurativa, inflamação não supurativa focal em órgãos como músculo esquelético, fígado, pulmão e placenta (GIBNEY et al., 2007; REITT et al., 2007; REGIDOR-CERRILLO et al., 2008). Junto com a histopatologia pode ser utilizada a imunoistoquímica, facilitando a visualização do antígeno. O principal limitante, tanto da histopatologia como da imunoistoquímica, é o estado de decomposição da maioria dos fetos. Esses geralmente chegam para diagnóstico em estado avançado de autólise ou mumificados, o que dificulta a realização de algumas técnicas (MCALLISTER, 2016).

TABELA 1 - TÉCNICAS SOROLÓGICAS PARA DETECÇÃO DE *N. caninum* EM ANIMAIS INFECTADOS

Técnica	Formato e características	Comentários
RIFI	Taquizoítos fixados	Método de Referência A interpretação dos resultados é subjetiva
NAT	Taquizoítos fixados	Específico Execução simples
LAT	Esferas de látex revestidas com taquizoítos	Sensibilidade e especificidade parecida com o NAT
<i>Immunoblotting</i>	Taquizoítos totalmente fixados	Demorado e não aplicado para triagem Recomendado para confirmação de diagnóstico
RIT	Antígeno recombinante	Simples e rápido Aplicado a condições de campo
ELISA	- ELISA indireto Taquizoítos fixados ISCOM (Complexo imunoestimulante) incorporados ao antígeno - ELISA competitivo Anticorpos monoclonais Anticorpos policlonais - ELISA avidéz Taquizoíto lisado Antígeno ISCOM	Triagem de um número grande de animais Vários Kits disponíveis comercialmente O ELISA avidéz está baseado no princípio de que os primeiros anticorpos produzidos após a infecção possuem menos afinidade pelo antígeno

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta; NAT: Teste de Aglutinação do Neospora; LAT: Teste de Aglutinação em Látex; RIT: Teste de Imunocromatografia rápida; ELISA: Ensaio de Imunoadsorção Enzimático

FONTE: Guido et al. (2016) modificado.

Ainda, como diagnóstico direto pode ser realizado a PCR, essa com alta sensibilidade e especificidade, podendo variar de acordo com o *primer* utilizado, com o tipo de extração de DNA e com os protocolos utilizados dos reagentes e termociclador. Atualmente existem diversos oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) que podem ser utilizados, os principais estão relacionados com os genes pNc5, ITS1, 18S e 28S. A PCR pode ser utilizada também para quantificar o DNA do agente, muito importante para o desenvolvimento de vacinas e estimar a carga parasitária em estudos epidemiológicos (DUBEY e SCHARES, 2006). A PCR ainda torna-se um importante método para a confirmação da eliminação de oocistos por canídeos, visto que os oocistos de *N. caninum* são morfologicamente similares aos oocistos de *Hammondia* spp., que também podem ser eliminados por essa espécie animal (DUBEY et al., 2002).

O isolamento do parasito pode ser realizado através de cultivo celular ou inoculação em camundongos e gerbils, porém essa é uma técnica difícil e com custos altos, sendo utilizada geralmente para fins de pesquisa (DUBEY, 2003).

2.1.4 Distribuição

Casos de *Neospora caninum* em cães e bovinos já foram relatados em cinco continentes no mundo, Ásia, África, Europa, Oceania e América (DUBEY et al., 2007; SPILOVSKÁ et al., 2009; YU et al., 2009; PANADERO et al., 2010, REICHEL et al., 2013). A ocorrência em diversos países, assim como no Brasil, varia de acordo com a região estudada e com o tipo de produção, leite ou corte (GOODSWEN et al., 2013).

No Brasil, atualmente, a ocorrência do protozoário varia de 10,9% a 50,74%, essa variação ocorre principalmente de acordo com a região estudada e o ponto de corte utilizado no teste empregado (TABELA 2) (TEIXEIRA et al., 2010; AGUIAR et al., 2011).

TABELA 2 - OCORRÊNCIA DE *Neospora CANINUM* EM BOVINOS DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL

Referência	UF	Nº rebanho	Nº animais examinados	Aptidão	Teste empregado	Ponto de corte	% Positivos
Guimarães Jr et al. (2004)	PR	23	623	leite	RIFI	1:50	14,3
Locatelli-Dittrich et al. (2008)	PR	77	1263	NI	ELISA	NI	33
Teixeira et al. (2010)	MA	27	812	leite	RIFI	1:200	50,74
Aguiar et al. (2011)	SP	118	1104	leite	RIFI	1:100	10,9
Amaral et al. (2012)	PE	NI	306	corte	RIFI	1:200	12,6
Moura et al. (2012)	SC	19	373	leite	RIFI	1:200	23,1
Bruhn et al. (2013)	MG	40	1204	leite	RIFI	1:200	21,6

NI – não informado

FONTE: A autora (2017).

Além das diferenças de região e do teste empregado, outra condição que interfere na ocorrência da doença são os fatores de risco, e esses variam de acordo com a região estudada e a propriedade. Os principais fatores de risco associados com a neosporose são: número de gestações, presença de hospedeiro definitivo na

propriedade, idade dos animais e a presença de problemas reprodutivos, como abortos, distocias e repetição de cio (GOODSWEN et al., 2013).

2.2 *Trypanosoma (Duttonella) vivax*

Trypanosoma (Duttonella) vivax é um protozoário flagelado, heteroxeno, do Filo Euglenozoa e da Família Trypanosomatidae. Parasita diversas espécies de animais domésticos e silvestres, porém os bovinos possuem uma maior importância (GIORDANI et al., 2016). São transmitidas principalmente por insetos hematófagos. No Brasil está associado principalmente com os Tabanidae e *Stomoxys calcitrans* (BIRHANU et al., 2015), porém podem ser transmitidos também por outros insetos hematófagos ou por agulhas contaminadas (ZAPATA et al., 2009).

Os primeiros relatos de *T. vivax* na América foram em 1930 quando houve a importação de bovinos do Senegal para a Guiana Francesa, Ilhas de Martinica e Guadalupe (CURASSON, 1943), a partir deste momento a doença se disseminou para diversos países. No Brasil, o primeiro relato da doença foi em 1946 no Estado do Pará (BOULHOSA, 1946) e em seguida foi diagnosticada em búfalos na região amazônica (SHAW e LAISON, 1972).

A doença está se disseminando nas diversas regiões do país trazendo inúmeros prejuízos na produção, porém em alguns Estados ela ainda não foi diagnosticada. Por ser uma doença exótica em algumas regiões, o impacto causado por ela atinge grandes proporções, preocupando os médicos veterinários e pecuaristas, principalmente pela grande queda na produção e perda de vários animais (PAIVA et al., 2000; CARVALHO et al., 2008).

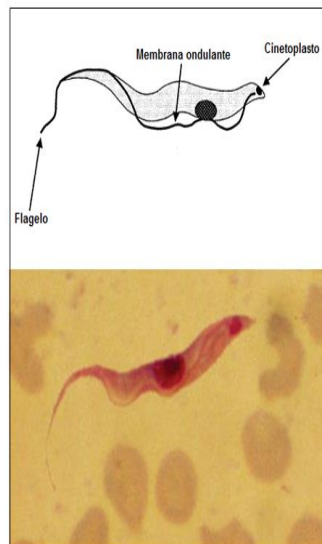
2.2.1 Estrutura e ciclo biológico

T. vivax é um hemoparasito flagelado, cuja forma tripomastigota é encontrada na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado. O corpo é alongado e achatado, possui 18 a 31 μm de comprimento (incluindo o flagelo, que possui de 3 a 6 μm), porém o comprimento médio varia de 21 a 25,4 μm , apresenta um grande dimorfismo, com a extremidade posterior variando de forma, podendo ser larga, terminando em forma rombuda, afilando abruptamente ou apresentando a ponta

arredondada. As principais estruturas do parasito são o núcleo, o cinetoplasto, uma membrana ondulante e o flagelo (FIGURA 3) (HOARE, 1972; DAGNACHEW e BEZIE, 2015).

As formas epimastigotas podem ser encontradas em moscas tsé-tsé, que pertencem ao gênero *Glossina*, esses são os únicos hospedeiros invertebrados em que há a multiplicação do parasito, permanecendo infeccioso durante a vida do inseto. No Brasil, como não há a presença da *Glossina* a transmissão se dá por outros insetos hematófagos, principalmente os Tabanidae e os *Stomoxys calcitrans* ou por agulhas contaminadas, porém esses insetos são apenas vetores mecânicos, pois não há a multiplicação do parasito (DESQUESNES e DIA, 2004; OSÓRIO et al., 2008).

FIGURA 3 - *Trypanosoma vivax* EM ESFREGAÇO SANGUÍNEO CORADO COM PANÓTICO, AUMENTO DE 1000X.



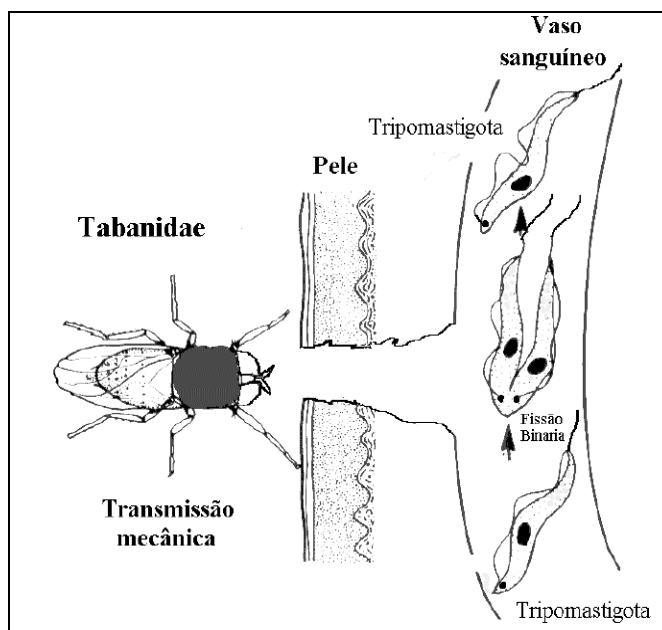
FONTE: Osório et al. (2009) modificado.

Diferentemente dos outros Tripanosomas, o *T. vivax* não possui a forma pró-cíclico, ou seja, não migra para o intestino do inseto, permanecendo somente na probóscide, alguns autores acreditam que seja esse o motivo do parasito poder ser transmitido por outras espécies de insetos, além da *Glossina* (OSÓRIO et al., 2008; JACKSON et al., 2015).

Após a infecção, no hospedeiro vertebrado os tripomastigotas se multiplicam através de fissão binária, eles são revestidos por glicoproteínas variáveis de superfície que induzem uma rápida resposta imune no animal, eliminando os parasitos rapidamente, porém alguns protozoários que sobrevivem substituem essas glicoproteínas de superfície levando a um novo Tipo Antigênico Variável (VAT),

esses novos tripomastigotas se multiplicam, gerando a doença. Por fim, novos insetos hematófagos se contaminam e transmitem para outros animais (FIGURA 4) (NANTULYA et al., 1986; DAGNACHEW e BEZIE, 2015).

FIGURA 4 - CICLO *Trypanosoma vivax*



FONTE: Silva et al. (2002).

2.2.2 Patogenia e sinais clínicos

A tripanosomose em bovinos possui alta morbidade e letalidade, principalmente quando há o primeiro contato entre o parasito e o hospedeiro vertebrado. A letalidade é explicada pela anemia severa, causada por hemólise intra e extravascular, diminuição da eritropoiese, hemorragias, secreção de neuramidase, que atua hidrolisando o ácido siálico, componente da superfície das hemácias e pela ação das fosfolipases que são liberadas pelos parasitos mortos, gerando lipídeos que alteram as hemácias. Ainda, a anemia pode ocorrer por mecanismos autoimunes que depositam complexos imunes na superfície das hemácias (ESIEVO et al., 1982; ANDRIANARIVO et al., 1995; OSÓRIO et al., 2008).

Além das alterações causadas pelas fosfolipases, neuramidases e proteases na superfície das hemácias, que vão gerar epítomos reconhecidos como estranhos, com produção de anticorpos, o próprio *T. vivax* também gera anticorpos que reconhecem epítomos das hemácias de bovinos, levando à destruição dessas hemácias, gerando a anemia (OKECK et al., 1996).

A anemia junto com o aborto são sinais característicos da tripanosomose em bovinos (SILVA et al., 1999). O processo patológico do aborto ainda não está totalmente esclarecido, alguns estudos recentes demonstram que ele está associado com a fase aguda da doença (DAGNACHEW e BEZIE, 2015), podendo ser causado pela indução do estresse, pela hipertermia persistente, por lesões do protozoário na placenta e no feto levando a reações inflamatórias e a diminuição dos níveis de progesterona (SILVIA et al., 2013; HURTADO et al., 2016).

Além de anemia e abortos, os animais também podem apresentar anorexia, leucopenia, hipoglicemia, alta atividade sérica de AST, aumento da frequência cardíaca e respiratória, edema, sinais neurológicos, repetição de cio, retenção de placenta e os filhotes podem nascer fracos e debilitados. Em machos podem ocorrer casos de infertilidade e esterilidade (BATISTA et al., 2007; DAGNACHEW e BEZIE, 2015; HURTADO et al., 2016).

2.2.3 Diagnóstico laboratorial

A tripanossomose pode ser confundida com diversas doenças que causam aborto e/ou anemia nos bovinos. Para o diagnóstico definitivo da doença é preciso a utilização de testes diagnósticos, sendo os principais métodos diretos para a doença o esfregaço sanguíneo, o método de Woo, o método de *Buffy Coat*, a PCR, a inoculação em camundongos, o método de aspirado do linfonodo e a histopatologia. Também podem ser utilizados os métodos indiretos, como a imunofluorescência indireta, o teste de aglutinação direto, o ELISA e o teste de tripanólise (SILVA et al., 2002; DAGNACHEW e BEZIE, 2015).

Os Métodos de esfregaço sanguíneo, método de Woo, método de *Buffy Coat* e o aspirado de linfonodo são os mais utilizados no Brasil, porém apesar de serem métodos de fácil execução e baratos eles possuem baixa sensibilidade e especificidade, principalmente quando a doença está na fase crônica (MADRUGA, 2004). Estudos realizados por Robson e Askar (1972) demonstraram uma sensibilidade de 33,3% e 31,5 para o esfregaço e aspirado de linfonodo, respectivamente, quando os dois métodos foram associados a sensibilidade aumentou para 35,3%.

A inoculação em camundongos possui uma sensibilidade maior do que os métodos de esfregaços, cerca de 88,2%, contudo essa técnica é mais utilizada para

fins de pesquisa por ser um método demorado e com custos mais elevados (SILVA et al., 2002).

As lesões observadas na histopatologia não são específicas da tripanossomose. Podem ser observadas hiperplasia dos folículos linfoides e áreas multifocais de necrose e infiltrado inflamatório em diversos tecidos, como hepático, cardíaco e esplênico (BATISTA et al., 2008).

Dos métodos diretos, a PCR é a técnica mais sensível e específica, e sua principal vantagem é detectar pequenas quantidades do DNA do parasito no sangue. No caso do *T. vivax* esse método consegue detectar a partir de um tripomastigota por mililitro de sangue. Os principais genes pesquisados são 24S- α e ITS (DESQUENES e DÁVILA, 2002).

As análises sorológicas geralmente são utilizadas somente para estudos epidemiológicos ou para triagem do rebanho. Atualmente, o uso desses métodos vem aumentando no Brasil, pois como os métodos parasitológicos possuem baixa sensibilidade para detecção de infecção crônica em rebanhos assintomáticos as técnicas sorológicas acabam sendo uma ótima alternativa (VENTURA et al., 2001). Os testes mais utilizados são a Reação de Imunofluorescência Indireta e o ELISA, os dois possuem sensibilidade e especificidade altas (MADRUGA et al., 2006; GARCIA et al., 2006; OSÓRIO et al., 2008).

2.2.4 Distribuição

Na América do Sul o *T. vivax* é enzoótico, apresentando incidência variável na população bovina, espalhando-se por diversas áreas. No Brasil, já foi relatada a presença do parasito em diversos Estados, como no Pará, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul, Pernambuco, entre outros. A prevalência nesses Estados varia de acordo com a região estudada e com a presença dos principais fatores de risco (TABELA 3) (SILVA et al., 2002; BATISTA et al., 2007; BARBIERI et al., 2016).

TABELA 3 - OCORRÊNCIA *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS DE DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL

Referência	UF	Nº rebanho	Nº animais examinados	Teste empregado	% Positivos
Guedes et al. (2008)	PA	NI	246	ELISA	93,1
Martins et al. (2008)	MS	NI	150	ELISA	52,6
Cadioli et al. (2012)	SP	1	609	ELISA	98,36
Guerra et al. (2013)	PE	NI	2053	RIFI	13,93
Costa et al. (2013)	PB	37	509	RIFI	0
Barbieri et al. (2016)	MG	40	400	RIFI	49,6

NI: Não informado

FONTE: A autora (2017).

Os principais fatores de risco da tripanossomose em bovinos estão relacionados com a presença dos insetos hematófagos, então a doença tem uma maior incidência no verão pelo aumento do número de insetos e acomete principalmente regiões tropicais. O compartilhamento de agulhas também favorece o aparecimento da doença nos animais. Outro fator que facilita a disseminação do *T. vivax* por diversas regiões é o transporte de animais, pois animais infectados vão para regiões onde não há doença ocasionando os surtos (SILVA, 2006; ZAPATA et al., 2009).

2.3 PARASITOS GASTROINTESTINAIS EM CÃES

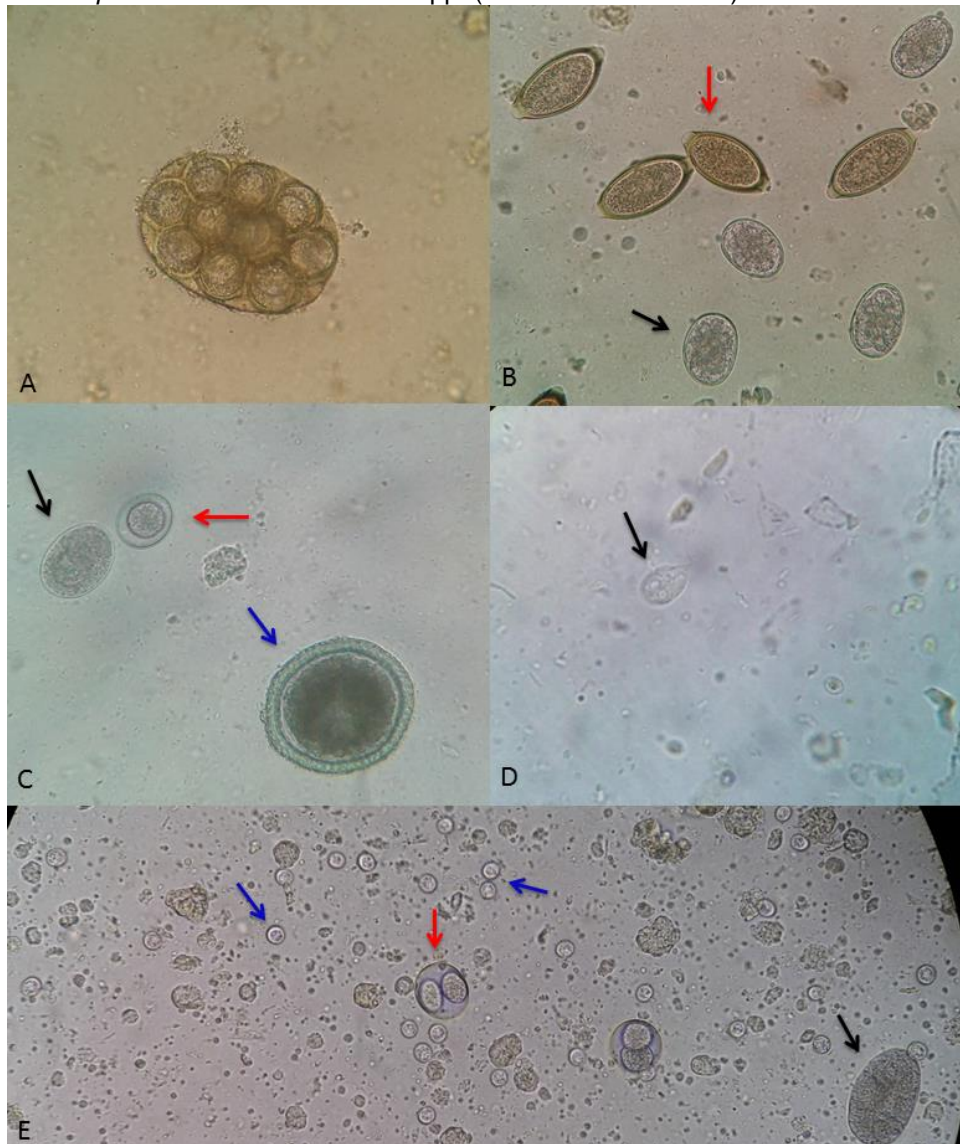
Os cães podem ser hospedeiros de diversas espécies de endoparasitos e ectoparasitos, algumas apresentam elevado potencial patogênico e podem infectar outras espécies de animais, inclusive o ser humano (ANDERSON e MAY, 1979).

Os endoparasitos mais comumente encontrados são os parasitos do trato gastrointestinal, que podem ser trematódeos, cestoides, nematoides, acantocéfalos ou protozoários (EGUIAR-AGUIAR et al., 2005). Os que infectam com maior frequência os cães são os nematoides *Ancylostoma* spp., *Toxocara canis* e *Trichuris vulpis*, o cestoda *Dipylidium caninum* e os protozoários *Cystoisospora* spp. e *Giardia* spp. (FIGURA 5) (LABRUNA et al., 2006; CURI et al., 2016).

Ancylostoma spp. é um endoparasito hematófago do intestino delgado, sendo as principais espécies encontradas em cães o *Ancylostoma caninum* e o *A. braziliense*. Algumas espécies podem ser encontradas parasitando os seres

humanos, como no caso do *A. duodenale* que é um parasito habitual do homem (DIAS et al., 2013). A infecção dos cães acontece de forma passiva (via oral) ou ativa (via cutânea), os filhotes também podem se infectar através da transmissão transmamária ou transplacentária (OLIVEIRA et al., 2008). Em humanos, esse parasito causa a doença conhecida como larva *migrans* cutânea, onde as larvas migram através da epiderme formando cordões eritematosos e pruriginosos (TELLERÍA et al., 2015).

FIGURA 5 - OVOS/OOCISTOS/TROFOZOÍTO DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES. A) CÁPSULA OVÍGENA DE *Dipylidium caninum* (AUMENTO DE 400X); B) SETA PRETA, OVO DE *Ancylostoma* spp., SETA VERMELHA, OVO DE *Trichuris vulpis* (AUMENTO DE 400X); C) SETA PRETA, OVO DE *Ancylostoma* spp., SETA VERMELHA, OOCISTO DE *Cystoisospora* spp., SETA AZUL, OVO DE *Toxocara* spp. (AUMENTO DE 400X); D) TROFOZOÍTO DE *Giardia* sp. (AUMENTO 1000X); E) SETA PRETA, OVO DE *Ancylostoma* spp., SETA VERMELHA, OOCISTO DE *Cystoisospora* spp., SETA AZUL, OOCISTO CARACTERÍSTICO DE *Neospora caninum*/*Hammondia* spp. (AUMENTO DE 400X)



FONTE: A autora (2016).

O *Toxocara canis* é um parasito comumente encontrado em filhotes de cães, a transmissão acontece pela ingestão de ovos embrionados, via transplacentária ou transmamária. Os vermes adultos estão localizados no intestino delgado, porém as larvas migram para diversos órgãos até completar o ciclo, como pulmão, fígado e coração (NICOLETTI, 2013). Quando os seres humanos ingerem ovos embrionados do parasito, as larvas penetram no intestino delgado, migram para diversos órgãos e não conseguem completar o seu ciclo, ocasionando diversas lesões em diferentes tecidos, essa doença é conhecida como larva *migrans* visceral (NICOLETTI, 2013; CARVALHO e ROCHA, 2014).

Parasito do intestino grosso de cães, o *Trichuris vulpis* é popularmente conhecido como “verme chicote”. Os cães eliminam os ovos nas fezes, contaminando o ambiente e se infectam quando ingerem os ovos embrionados, esses precisam de temperatura e umidade adequada para embrionarem e se tornarem infectantes (KIRKOVA e DINEV, 2005). Esse parasito também pode infectar os humanos, porém são raros os casos (STEINMANN et al., 2015).

O *Dipylidium caninum* é um parasito do intestino delgado dos cães e gatos, ocasionalmente pode causar infecção humana (KATAGIRI e OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007). Seus hospedeiros intermediários são as pulgas dos gêneros *Ctenocephalides felis* e *Ctenocephalides canis*, sendo que a infecção nos cães ocorre pela ingestão acidental da pulga (MEHLHORN, 2015).

Cystoisospora spp. é um protozoário intracelular do intestino delgado e/ou grosso e parasita diversas espécies de animais. Há quatro espécies que infectam os cães: *Cystoisospora canis*, *C. ohioensis*, *C. neorivolta* e *C. burrowsi*. Os animais se infectam quando ingerem acidentalmente oocistos esporulados, esses são eliminados nas fezes na forma não esporulada (HOUK e LINDSAY, 2013).

A *Giardia* spp. é um protozoário flagelado entérico, não possui a capacidade de invadir células, infecta diversas espécies de animais e é uma importante zoonose que causa diarreia por má absorção em crianças, idosos e indivíduos imunossuprimidos (KATAGIRI e OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007; CAMA e MATHISON, 2015). A principal forma de transmissão para os cães e para humanos é através da ingestão de água contaminada com cistos do protozoário (CAMA e MATHISON, 2015).

Além desses parasitos, *Cryptosporidium* spp., *Sarcocystis* spp., *Neospora caninum*, *Hymenolepis diminuta*, *H. nana*, *Capillaria* spp., entre outros, também

parasitam os cães, porém são encontrados em um percentual menor (LABRUNA et al., 2006; CURI et al., 2016).

2.1.2 Sinais clínicos

O principal sinal clínico resultante da infecção por parasitos gastrintestinais é a diarreia, causada principalmente por má absorção, podendo ser aguda ou crônica e possuir muco e/ou sangue, dependendo do parasito envolvido (KATAGIRI e OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007; SANTOS et al., 2007).

Ainda, os animais podem apresentar vômitos, anorexia, apatia e perda de peso. Os sinais variam de acordo com a carga parasitária, com a idade dos animais e costuma acometer com maior frequência animais imunossuprimidos e debilitados. Cães saudáveis, com baixa carga parasitária são geralmente assintomáticos, porém eliminam ovos e oo (cistos) no ambiente facilitando a contaminação de outros animais (KATAGIRI e OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007).

2.1.3 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico das parasitoses gastrintestinais geralmente é realizado através de técnicas coproparasitológicas. Há diversos métodos que podem ser utilizados (TAPARO et al., 2006).

O Método de Willis-Mollay (1921) tem como principal objetivo a procura de ovos leves de parasitos, como *Ancylostoma* spp., *Trichuris vulpis* e *Toxocara* spp., ele se baseia na utilização de uma solução hipersaturada que faz com que os ovos flutuem. Outro método muito utilizado é o de Hoffman, Pons e Janer (1934) que possui uma maior sensibilidade para ovos pesados e larvas, como *Dipylidium caninum* e *Taenia* spp., é um método simples e barato, pois a única solução utilizada é a água. Ainda pode ser utilizado o método de Sheather (1923), mais utilizado quando há suspeita de protozoários, esse método utiliza solução de sacarose e os ovos, oocistos e cistos flutuam após centrifugação. Além do método de Sheather, podem ser utilizados outros dois métodos para a procura de protozoários, o método

de Faust et al. (1938) que utiliza sulfato de zinco e o método de Ritchie (1948) em que é utilizado o formol e éter.

Pode ser utilizado também o exame direto, onde é feito um esfregaço de fezes frescas em uma lâmina e realizado a leitura em microscópio, porém esse método é menos sensível do que os métodos descritos acima (TAPARO et al., 2006).

Os métodos moleculares e sorológicos também são utilizados, porém, devido aos custos elevados os métodos coproparasitológicos são mais utilizados na rotina veterinária (UECKER et al., 2007).

2.1.4 Distribuição

Os parasitos gastrintestinais em cães possuem distribuição mundial. A prevalência varia de acordo com a região, com o método de diagnóstico empregado e com os principais fatores de risco envolvidos. No Brasil, as parasitoses estão presentes em todos os Estados, com ocorrência variando entre 21% e 100% (TABELA 4) (LABRUNA et al., 2006; PEREIRA JUNIOR e BARBOSA, 2013; BERNARDES et al., 2015).

TABELA 4 - FREQUÊNCIA DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM CÃES NO BRASIL

Referência	UF	Nº animais examinados	% Positivos
Pereira Junior e Barbosa (2013)	AM	80	100
Farias et al. (2013)	PI	195	54,9
Stalliviere et al. (2013)	SC	523	38,2
Ferreira et al. (2013)	PR	2290	37,16
Ribeiro et al. (2015)	PR	123	60,1
Bernardes et al. (2015)	PA	150	21
Frizzo et al. (2016)	SC	50	56
Curi et al. (2016)	MG	129	58

FONTE: A autora (2017).

3 REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M.; LACERDA, D. P.; ORLANDELLI, R. C.; MEDINA, A. O.; AZEVEDO, L. H.; OKUDA, L. H.; CASTRO, V.; GENOVEZ, M. E.; PITUCO, E. M. Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in female bovines from the western São Paulo State, Brazil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p.183-189, 2011.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; SOUZA NETO, O. L.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.10, p. 963-966, 2012.
- ANDERSON, M. R.; MAY, R. M. Population biology of infectious diseases: Part I. **Nature**, v. 280, n. 2, p. 361-367, 1979.
- ANDRIANARIVO, A. G.; MUIYA, P.; OPOLLO, M.; LOGAN-HENFREY, L. L. *Trypanosoma congolense*: comparative effects of a primary infection on bone marrow progenitor cells from N'Dama and Boran cattle. **Experimental Parasitology**, v. 80, p. 407-418, 1995.
- BARBIERI, J. M.; BLACON, Y. A. C.; BRUHN, F. R. P.; GUIMARÃES, A. M. seroprevalence of *Trypanosoma vivax*, *Anaplasma marginale*, and *Babesia bovis* in dairy cattle. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 564-573, 2016.
- BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; NETO, A. M. R.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 63-69, 2008.
- BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G.; MADRUGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 174-181, 2007.
- BERNARDES, V. H. F.; PEREIRA, W. L. A.; BENIGNO, R. N. M.; MOURA, L. G. S.; QUEIROZ, D. K. S.; AGUIRRA, L. R. V. M.; ROLIN FILHO, S. T. Ocorrência de parasitas de importância zoonótica: *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp., em cães da região metropolitana de Belém, Pará. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 9, n. 3, 2015.
- BIRHANU, H.; FIKRU, R.; SAID, M.; KIDANE, W.; GEBREHIWOT, T.; HAGOS, A.; ALEMU, T.; DAWIT, T.; BERKVEN, D.; GODDEERIS, B. M.; BUSCHER P. Epidemiology of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma vivax* in domestic animals from selected districts of Tigray and Afar regions, Northern Ethiopia. **Parasites Vectors**, v. 8, p. 212, 2015.
- BJÖRKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, p. 271-274, 1984.

BOULHOSA, J. L. **Boletim DEMA**, jul.-nov, 1946.

BRUHN, F. R. P.; DAHER, D. O.; LOPES, E.; BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 5, p. 1093-1098, 2013.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 12, p. 546-552, 2002.

CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M.R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JUNIO, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 118-124, 2012.

CAMA, V. A.; MATHISON, B. A. Infections by Intestinal *Coccidia* and *Giardia duodenalis*. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 2, p. 423-444, 2015.

CANTÓN, G. J.; KATZER, F.; MALEY, S. W.; BARTLEY, P. M.; BENAVIDESSILVÁN, J.; PALAREA-ALBALADEJO, J.; PANG, Y.; SMITH, S. H.; ROCCHI, M. S.; BUXTON, D.; INNES, E. A.; CHIANINI, F. Inflammatory infiltration into placentas of *Neospora caninum* challenged cattle correlates with clinical outcome of pregnancy. **Veterinary research**, v. 45, p. 11, 2014.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

CARVALHO, E. A. A.; ROCHA, R. L. Visceral Larva Migrants Syndromes Associated with Toxocariasis: Epidemiology, Clinical and Laboratory Aspects of Human Toxocariasis. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 1, p.74-79, 2014.

COSTA, V. M.; RIBEIRO, M. F.; DUARTE, A. L.; MANGUEIRA, J. M.; PESSOA, A. F.; AZEVEDO, S. S.; BARROS, A. T.; RIET-CORREA, F.; LABRUNA, M. B. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 207-213, 2013.

CURASSON, G. *Traité de protozoologie vétérinaire et comparée. I. trypanosomes*. Vigot Frères, Paris, 445 pp. 1943.

CURI, N. H. A.; PASCHOAL, A. M. O.; MASSARA, R. L.; SANTOS, H. A.; GUIMARÃES, M. P.; PASSAMANI, M.; CHIARELLO, A. G. Risk factors for gastrointestinal parasite infections of dogs living around protected areas of the Atlantic Forest: implications for human and wildlife health. **Brazilian Journal of Biology**, v. 15, 2016.

DAGNACHEW, S. & BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. **African Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 7, p. 41-64, 2015.

De VRIES, A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 3876 - 3885, 2006.

DESQUESNES, M. & DÁVILA, A. M. R. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 213–231, 2002.

DESQUESNES, M. & DIA, M. L. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 9-19, 2004.

DIAS, S. R. C.; CUNHA, D. E. S.; SILVA, S. M.; SANTOS, H. A.; FUJIWARA, R. T.; RABELO, E. M. L. Evaluation of parasitological and immunological aspects of acute infection by *Ancylostoma caninum* and *Ancylostoma braziliense* in mixed-breed dogs. **Parasitology Research**, v. 112, p. 2151-2157, 2013.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; WOUDE, W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 209-215, 2001.

DONAHOE, S. L.; LINDSAY, S. A.; KROCKENBERGER, M.; PHALEN, D.; SLAPETA, J. A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. **International journal for parasitology**, v. 4, p. 216-238, 2015.

DUBEY, J. P. & SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p. 1–34, 2006.

DUBEY, J. P. Review of *N.caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**. v. 41, p.1-16, 2003.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKÅS, I.; BJORCKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; MCALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 929–946, 2002.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, p. 1269-1285, 1988a.

DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and the experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, p. 1259-1263, 1988b.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; ANDERSON, M. L.; DAVIS, S. W.; SHEN, S. K. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, p. 709-713, 1992.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals-The last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p.90-108, 2011.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M; Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 323–367, 2007.

EGUIA-AGUILAR, P.; CRUZ-REYES, A.; MARTÍNEZ-MAYA, J. J. Ecological analyses and description of the intestinal helminthes present in dogs in Mexico City. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 139-146, 2005.

ESIEVO, K. A. N.; SAROR, D. I.; ILEMOBADE, A. A.; HALLAWAY, M. H. Variation in erythrocyte surface and free serum sialic acid concentrations during experimental *T. vivax* infection in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 32, p. 1-5, 1982.

FARIAS, A. N. S.; SILVA, M.; OLIVEIRA, J. B. S.; ROCHA, L. B.; SANTOS, K. R. Diagnosis of gastrointestinal parasites in dogs from Bom Jesus, Piauí, Brazil. **Revista Academia, Ciências Agrárias e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 431-435, 2013.

FAUST, E. C.; D'ANTONI, J. S.; ODOM, V.; MILLER, M. J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L. F.; TOBIE, J.; WALKER, H. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 18, p. 169-183, 1938.

FERREIRA, F. P.; DIAS, R. C. F.; MARTINS, T. A.; CONSTANTINO, C.; PASQUALI, A. K. S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T. Frequency of gastrointestinal parasites in dogs and cats of Londrina, PR, focusing on public health. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, s. 2, p. 3851-3858, 2013.

FRIZZO, C.; SCHIMIDT, A. P.; WAGNER, G.; MULLER, G. A. Intestinal parasites present in canine fecal samples collected in rural areas of municipalities in the midwest of Santa Catarina, Brazil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 45, n. 2, p. 227-232, 2016.

GARCÍA, H.; GARCÍA, M. E.; PÉREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, É.; PÉREZ, H.; MENDONZA-LEÓN, A. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v. 100, n. 4, p. 297-305, 2006.

GIBNEY, E. H.; KIPAR, A.; ROSBOTTOM, A.; GUY, C. S.; SMITH, R. F.; HETZEL, U.; TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. the extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *N. caninum* infection in early and late gestacion correlates with foetal death. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 579-588, 2008.

GIORDANI, F.; MORRISON, L. J.; ROWAN, T. G.; KONING, H. P.; BARRETT, M. P. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. **Parasitology**, v. 10, p. 1-28, 2016.

GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, p. 133–150, 2013.

GUEDES, D. S. J.; ARAÚJO, F. R.; SILVA, F. J.; RANGEL, C. P.; BARBOSA NETO, J. D.; FONSECA, A. H. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the Northeastern region of the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 2, p. 105-109, 2008.

GUERRA, N. G.; MONTEIRO, M. F. M.; SANDES, H. M. M.; CRUZ, N. L. N.; RAMOS, C. A. N.; SANTANA, V. L. A.; SOUZA, M. M. A.; ALVES, L. C. Detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1423-1426, 2013.

GUIDO, S.; KATZER, F.; NANJIANI, I.; MILNE, E.; INNES, E. A. Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine Neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 2, p. 131-143, 2016.

GUIMARÃES JR. J. S.; SOUZAB, S.L.P.; BERGAMASCHIC, D.P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n.1–2, p. 1–8, 2004.

HOARE C. A. **The tripanosomes of mammals: A zoological monograph**. Blackwell, Oxford, p. 1-749, 1972.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Journal of Public Health**, v. 9, p. 281-289, 1934.

HOUK, A. E.; LINDSAY, D. S. *Cystoisospora canis* (Apicomplexa: Sarcocystidae): Development of monozyotic tissue cysts in human cells, demonstration of egress of zoites from tissue cysts, and demonstration of repeat monozyotic tissue cyst formation by zoites. **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 455–461, 2013.

HURTADO, O. J. B.; CASTRO, P. D. J.; GIRALDO-RÍOS, C. Reproductive failures associated with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. **Veterinary Parasitology**, V. 229, p. 54–59, 2016.

IBGE. Banco de dados Agregados. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acessado em: 16 de novembro de 2016.

JENKINS, M. C.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 631-636, 2002.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 2, p. 175-184, 2007.

KIRKOVA, Z.; DINEV, I. Morphological changes in the intestine of dogs, experimentally infected with *Trichuris vulpis*. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, p. 239-243, 2005.

LABRUNA, M. B.; PENA, H. F. J.; SOUZA, S. L. J.; PINTER, A.; SILVA, J. C. R. RAGOZO, A. M. A.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p.183-193, 2006.

LINDSAY, D. S. & DUBEY, J. P. Imunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal Veterinary Research**, v. 50, p. 1981-1983, 1989.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327-333, 1999.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; MACHADO JR, P. C.; FRIDLUND-PLUGGE, N.; RICHARTZ, R. R. T. B.; MONTIANI-FERREIRA, F.; PATRÍCIO, L. F. L.; PATRÍCIO, M. A. C.; JOINEAU, M. G.; PIEPPE, M. Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, s. 1, p. 191-196, 2008.

MADRUGA, C. R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanossoma (Duttonella) vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n. 1, p. 46-47, 2004.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; CAVALCANTE GOES, G.; MARTINS, C.; PFEIFER, I. B.; RIBEIRO, L. R.; KESSLER, R. H.; SOARES, C. O.; MIGUITA, M.; MELO, E. P.; ALMEIDA, R. F.; LIMA, M. M. JR. The development of a enzymelinked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 7, p. 801-807, 2006.

MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; GASBARRE, L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: Humoral and cellular immune responses. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1647-1657, 1999.

MARTINS, C. F.; MADRUGA, C. R.; KOLLER, W. W.; ARAUJO, F. R.; SOARES, C. O.; KESSLER, R. H.; MELO, E. S. P.; RIOS, L. R.; ALMEIDA, R. C. F.; LIMA, M. S. C.; BARROS, A. T. M.; MARQUES, L. C. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 51-56, 2008.

MCALLISTER, M. M. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 443-463, 2016.

MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1473-1478, 1998.

MEHLHORN, H. *Dipylidium caninum*. **Encyclopedia of Parasitology**, p. 1-5, 2015.

MONNEY, T.; HEMPHILL, A. Vaccines against neosporosis: what can we learn from the past studies? **Experimental Parasitology**, v. 140, p. 52-70, 2014.

MOURA, A. B.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; BELLATO, V.; TEIXEIRA, E. B. *Neospora caninum* antibodies in dairy cattle of Lages Municipality, Santa Catarina State, Brazil. **Arquivos de Medicina Veterinária**, v.44, n.2, p. 117-122, 2012.

NANTULYA, V. M.; MUSOKE, A. J.; MOLOO, S. K. Apparent exhaustion of the variable antigen repertoires of *Trypanosoma vivax* in infected cattle. **Infection and Immunity**, v. 54, n. 2, p. 444–447, 1986.

NICOLETTI, A. Toxocariasis. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 114, p. 217-228, 2013.

O'TOOLE, D.; JEFFREY, M. Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf. **Veterinary Record**, v. 121, p. 563-566, 1987.

OKECH, G.; DOLAN, R. B.; STEVENSON P.; ALUSHULA, H.; WATSON, E. D.; LUCKINS, A. G.; OMUSE, J. K. The effect of trypanosomosis on pregnancy in trypanotolerant Orma Boran cattle. **Theriogenology**, v. 46, n. 3, p. 441-447, 1996.

OLIVEIRA, F.; FAGUNDES, E.; BIAZOTTO, G. NEVES, M. F. Ancilostomíase. **Revista Eletronica de Medicina Veterinária**, ano VI, n. 11, 2008.

ORTEGA-MORA, L. M.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, A.; GÓMEZ-BAUTISTA, M. Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. **Acta Parasitologica**, v. 51, n. 1, p. 1-14, 2006.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; COSTA, S. C. G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis and introduction in the New World – A Review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 1, p. 1-13, 2008.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO L.; MORI, A. E.; BRUM, K. B.; BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: Acompanhamento clínico, laboratorial e anátomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2000.

PANADERO, R.; PAINCEIRA, A.; LÓPEZ, C.; VÁZQUEZ, L.; PAZ, A.; DÍAZ, P.; DACAL, V.; CIENFUEGOS, S.; FERNÁNDEZ, G.; LAGO, N.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). **Research in Veterinary Science**, v. 88, p. 111-115, 2010.

PARISCH, S. M.; MAAGOMILLER, L.; BESSER, T. E.; WEINDER, J. P.; MCELWAIN, T.; KNOWLES, D. P.; LEATHERS, C. W. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, p. 1599—600, 1987.

PEREGRINE, A. S.; MARTIN, S.W.; HOPWOOD, D. A.; DUFFIELD, T. F.; MCEWEN, B.; HOBSON, J. C.; HIETALA, S. K. *Neospora caninum* and *Leptospira* serovar serostatus in dairy cattle in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v. 47, p. 467–470, 2006.

PEREIRA JUNIOR, G.; BARBOSA, P. S. Prevalência de endoparasitas em cães errantes na cidade de Manaus-AM. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 4, n. 2, 2013.

REGIDOR-CERRILLO, J.; GOMEZ-BAUTISTA, M.; PEREIRA-BUENO, J.; ADURIZ, G.; NAVARRO-LOZANO, V.; RISCO-CASTILLHO, V.; FERNANDEZ-GARCIA, A.; PEDRAZA-DIAZ, S.; ORTEGA-MORA, L. M. Isolation and genetic characterization of *Neospora caninum* from asymptomatic calves in Spain. **Parasitology**, v. 135, p. 1651-1659, 2008.

REICHEL, M. P.; AYANEGUI-ALCÉRRECA, A. M.; GONDIM, L. F.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 133-142, 2013.

REITT, K.; HILBE, M.; VOEGTLIN, A.; BORBOZ, L.; HAESSING, M.; POSPISCHIL, A. Aetiology of Bovine Abortion in Switzerland from 1986 to 1995 – A retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 54, p. 15-22, 2007.

RIBEIRO, C. M.; LIMA, D. E.; KATAGIRI, S. Infecções por parasitos gastrintestinais em cães domiciliados e suas implicações na transmissão zoonótica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 2, p. 238-244, 2015.

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bulletin of the United States. **Army Medical Department**, v. 8, p. 326, 1948.

ROBERTSON, I. D.; IRWIN, P. J.; LYMBERY, A. J.; THOMPSON, R. C. A. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.1369-1377, 2000.

ROBSON, J. & ASHKAR, T. S. Trypanosomiasis in domestic livestock in the Lambwe Valley area and a field evaluation of various diagnostic techniques. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 47, p. 727-734, 1972.

SANTOS, F. A. G.; YAMAMURA, M. H.; VIDOTTO, O.; CAMARGO, P. L. Occurrence of gastrointestinal parasites in dogs (*Canis familiaris*) with acute diarrhea from metropolitan region of Londrina, Parana State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 257-268, 2007.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine Parasitology**, v. 66, n. 1, p. 25-33, 1972.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a floatation technique. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 36, n. 4, p. 266-275, 1923.

SILVA, R. A. M. S. Approach on risk factors of bovine trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* en the Bolivian and Brazilian Pantanal. **Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 2, p. 153-162, 2006.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDEL, A.; RAMIREZ, L.; DAVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 141pp, 2002.

SILVA, R.A., RAMIREZ, L., SOUZA, S.S., ORTIZ, A.G., PEREIRA, S.R., DAVILA, A.M. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 87–93, 1999.

SILVA, T. M.; OLINDA, R. G.; RODRIGUES, C. M.; CAMARA, A. C.; LOPES, F. C.; COELHO, W. A.; RIBEIRO, M. F.; FREITAS, C. I.; TEIXEIRA, M. M.; BATISTA, J. S. Pathogenesis of reproductive failure induced by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected pregnant ewes. **Veterinary Research**, v. 44, n. 1, p. 1-9, 2013.

SPILOVSKÁ, S.; REITEROVÁ, K.; KOVÁČOVÁ, D.; BOBÁKOVÁ, M.; DUBINSKY, P. The first finding of *Neospora caninum* and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovakia. **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 320-323, 2009.

STALLIVIERE, F. M.; DALLA ROSA, L.; BELLATO, V.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; MOURA, A. B. Helintos intestinais em cães domiciliados e aspectos socioeconômicos e culturais das famílias proprietárias dos animais de Lages, SC, Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, n. 3, p. 22-27, 2013.

STEINMANN, P.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G.; DUD, Z.; MARTI, H.; JIANG, J.; ZHOU, H.; ZHOU, X.; UTZINGER, J. Morphological diversity of *Trichuris* spp. eggs observed during an anthelmintic drug trial in Yunnan, China, and relative performance of parasitologic diagnostic tools. **Acta Tropica**, v. 141, p. 184-189, 2015.

TÁPARO, C. V.; PERRI, S. H. V.; SERRANO, A. C. M.; ISHIZAKI, M. N.; COSTA, T. P.; AMARANTE, A. F. T.; BRESCIANI, K. D. S. Comparação entre técnicas coproparasitológicas no diagnóstico de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2006.

TEIXEIRA, W. C.; UZÊDA, R. S.; GONDIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalência de anticorpos anti *Neospora Caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.9, p. 729-734, 2010.

TELLERIA, R.; BUJAN, M. M.; CERVINI, A. B. Resolución del caso presentado en el número anterior – Larva migrans cutánea. **Archivos Argentinos de Pediatría**, v. 113, n. 4, p. 375-377, 2015.

THILSTED, J. P.; DUBEY, J. P. Neosporosis – like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.1, p. 205-209, 1989.

UECKER, M.; COPETTI, C. E.; POLEZE, L.; FLORES, V. Infecções parasitárias: diagnóstico imunológico de enteroparasitoses. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n. 1, p. 15-19, 2007.

VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R. A. M. S.; TAKEDA, G. F.; BUCK, G. A.; TEIXEIRA, M. M. G. *Trypanosoma vivax*: Characterization of the Spliced-Leader Gene of a Brazilian Stock and Species-Specific Detection by PCR Amplification of an Intergenic Spacer Sequence. **Experimental Parasitology**, v. 99, p. 37–48, 2001.

WILLIS, I. I. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Medical Journal of Austrália**, v. 8, p. 375-376, 1921.

YU, X.; CHEN, N.; HU, D.; ZHANG, W.; LI, X.; WANG, B.; KANG, L.; LI, X.; LIU, O.; TIAN, K. Detection of *Neospora caninum* from Farm-Bred Young Blue Foxes (*Alopex lagopus*) in China. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 71, p. 113–115, 2009.

ZAPATA, R.; MESA, J.; MEJÍA, J.; REYES, J.; RÍOS, L. A. Frecuencia de infección por *Trypanosoma* sp. en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en cuatro hatos bufaleros de Barrancabermeja Colombia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 22, p. 25–32, 2009.

ZOCCAL, R.; CARNEIRO, A. V.; JUNQUEIRA, R.; ZAMAGNO, M. A. **A nova pecuária leiteira brasileira**. III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Recife: CCS Gráfica e Editora, v. 1, p. 85-95, 2008.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Obter dados de prevalência e ocorrência de patógenos em bovinos e cães da região Oeste do Paraná, Brasil e determinar os principais fatores de risco associados.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a prevalência de *Neospora caninum* em bovinos da região Oeste do Paraná, Brasil, correlacionar os resultados com a sorologia dos cães das mesmas propriedades e definir os principais fatores de risco associados.

Pesquisar a presença de *Neospora caninum* em fetos de bovinos leiteiros da região Oeste do Paraná, Brasil.

Determinar a prevalência de *Trypanosoma vivax* em bovinos da região Oeste do Paraná, Brasil e os possíveis fatores de risco.

Determinar a ocorrência de enteroparasitas em cães de propriedades rurais da região Oeste do Paraná, Brasil e os principais fatores de risco associados.

CAPÍTULO I: *Neospora caninum* EM FÊMEAS DE BOVINOS LEITEIROS E EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL: PREVALÊNCIA E ESTUDO DOS FATORES DE RISCO

RESUMO

Neospora caninum é um protozoário heteroxeno, cujos hospedeiros definitivos são os canídeos e os hospedeiros intermediários são os herbívoros, apresentando maior importância em bovinos. O principal sinal clínico nos bovinos é o aborto, que gera inúmeros prejuízos. O objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência de *N. caninum* em bovinos leiteiros e cães, detectar o protozoário em fetos abortados e identificar os fatores de risco associados à infecção em propriedades da região Oeste do Paraná. Para isso foram coletadas 600 amostras de soro de bovinos provenientes de 60 propriedades, 163 amostras de soro de cães de 52 propriedades e 17 fetos de nove propriedades da região Oeste do Paraná. Por fim foram coletados dados em um questionário epidemiológico para verificar os fatores de risco. As amostras de soro foram analisadas por meio da RIFI e os tecidos fetais foram analisados utilizando a PCR e posterior sequenciamento de DNA. Os resultados da sorologia foram analisados através do programa EpiInfo. Das amostras de bovinos, 23,67% foram positivas para *N. caninum*. Entre os cães, 11,66% foram positivas. As variáveis associadas com a infecção nos bovinos foram histórico de aborto, baixa produção de leite, criação extensiva e raça Jersey. A presença de cães positivos nas propriedades não foi um fator de risco para a neosporose bovina. Dos 17 fetos analisados, em 52,94% foi possível detectar DNA do protozoário. Os resultados demonstram uma ampla distribuição do protozoário em bovinos e cães na região Oeste do Paraná.

Palavras-chave: abortos, neosporose, PCR, RIFI

ABSTRACT

Neospora caninum is a heteroxene protozoan, whose definitive hosts are the canids and the intermediate hosts are the herbivores, presenting greater importance in cattle. The main clinical sign in cattle is abortion, which generates numerous damages. The objective of this study was to determine the prevalence of *N. caninum* in dairy cattle and dogs, to detect the protozoan in aborted fetuses and to identify the risk factors associated with infection in properties in the western region of Paraná. For this purpose, 600 bovine serum samples from 60 properties, 163 serum samples from 52 farms and 17 fetuses from nine properties from the western region of Paraná were collected. Finally, data were collected in an epidemiological questionnaire to verify the risk factors. The serum samples were analyzed by IFAT and the fetal tissues were analyzed using PCR and subsequent DNA sequencing. The results of the serology were analyzed through the EpiInfo program. Of the bovine samples, 23.67% were positive for *N. caninum*. Among the dogs, 11.66% were positive. The variables associated with infection in cattle were history of abortion, low milk production, extensive breeding and Jersey breed. The presence of positive dogs on the properties was not a risk factor for bovine neosporosis. Of the 17 fetuses analyzed, in 52.94% it was possible to detect protozoan DNA. The results

demonstrate a wide distribution of the protozoan in cattle and dogs in the western region of Paraná.

Key words: abortions, IFAT, neosporosis, PCR

1. INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um protozoário intracelular obrigatório que necessita de dois hospedeiros para completar o seu ciclo. Os canídeos são os hospedeiros definitivos e os bovinos são os principais hospedeiros intermediários, porém esse parasito pode acometer também ovinos, caprinos, equinos, aves, além de animais silvestres (DUBEY e SCHARES, 2011; GOODSWEN et al., 2013).

Os canídeos se infectam quando ingerem tecidos contaminados com bradizoítos do protozoário, geralmente placenta ou restos fetais. São raros os cães que apresentam sinais clínicos, sendo os mais comuns diarreia, geralmente associada com a eliminação dos oocistos, e sinais neurológicos (LINDSAY et al., 1999; MONNEY e HEMPHILL, 2014; DONAHOE et al., 2015). Já os hospedeiros intermediários adquirem a doença quando ingerem os oocistos esporulados presente na água ou alimentos contaminados (GOODSWEN et al., 2013).

A infecção por esse protozoário é considerada uma das principais causas de aborto em bovinos e responsável por inúmeros prejuízos em propriedades rurais, pois além da transmissão horizontal há também a transmissão vertical do protozoário que é a mais importante forma de manutenção do parasito nas propriedades, e essa pode levar ao aborto ou ao nascimento de bezerras(os) congenitamente infectados, podendo transmitir também nas futuras gestações (MCALLISTER, 2016).

N. caninum possui uma ampla distribuição, sendo já descritos casos em cinco continentes, Ásia, África, América, Europa e Oceania (DUBEY et al., 2007; SPILOVSKÁ et al., 2009; YU et al., 2009; PANADERO et al., 2010, REICHEL et al., 2013). A ocorrência em diversos países, assim como no Brasil, varia de acordo com a região estudada, com os fatores de risco e com a técnica de diagnóstico empregada (GOODSWEN et al., 2013).

O Estado do Paraná é terceiro maior produtor de leite do Brasil, sendo a região Oeste do Estado a de maior destaque, pois além de ser a região que mais

produz no Estado, três cidades (Marechal Cândido Rondon, Toledo e Cascavel) se destacam por estarem entre as 15 maiores produtoras do país (IBGE, 2016).

Raros são os trabalhos epidemiológicos envolvendo agentes patogênicos que acometem bovinos de leite nessa região, portanto o objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência de *N. caninum* em bovinos leiteiros e cães, detectar o protozoário em fetos abortados e identificar os fatores de risco associados à infecção em propriedades da região Oeste do Paraná.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Esse estudo está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná-Setor Palotina, com protocolo número 50/2014.

2.2. ÁREA DE ESTUDO E CÁLCULO DE AMOSTRAGEM

A região Oeste é a principal bacia leiteira do Estado do Paraná, sendo as cidades de Marechal Cândido Rondon, Toledo e Cascavel as maiores produtoras da região (IBGE, 2016), portanto essa região foi escolhida para o estudo de prevalência de *N. caninum*.

Para a definição do tamanho da amostra foi realizado o cálculo de amostragem utilizando o programa Epilnfo (versão 7.2.0.1), onde foi utilizada uma prevalência esperada de 35%, de acordo com outros trabalhos no Estado do Paraná, como Locatelli-Dittrich et al. (2008), erro máximo esperado de 5%, intervalo de confiança de 95% e DEFF (*Design Effect*) 1,5, que deve ser utilizado quando não há coleta de amostras aleatoriamente, diminuindo o erro; tendo como resultado 525 amostras como número mínimo a ser coletado. Contudo, foi utilizado um número de 600 animais, distribuídos em quatro cidades da Região Oeste do Paraná: Cascavel, Marechal Cândido Rondon, Palotina e Toledo.

O número de propriedades rurais de bovinocultura de cada cidade foi fornecido pela Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR), em seguida foi realizado um cálculo de propriedades a serem coletadas, sendo a distribuição proporcional (TABELA 1).

As propriedades, em cada cidade, foram selecionadas aleatoriamente, abrangendo desde a pequena produção até a produção em grande escala. Foi estipulado que seriam coletadas amostras de 10 animais em cada propriedade, totalizando 60 propriedades.

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DAS PROPRIEDADES E BOVINOS COLETADOS EM DIFERENTES CIDADES DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Cidade	Nº propriedades*	Nº propriedades coletadas	Nº animais coletados
Cascavel	1902	18	180
Toledo	2000	19	190
Marechal Cândido Rondon	1862	17	170
Palotina	591	6	60
Total	6355	60	600

*Fonte: ADAPAR (2015).

2.3. COLETA DE AMOSTRAS E APLICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Foram coletadas amostras de sangue da veia caudal de 600 vacas, provenientes de 60 propriedades de quatro cidades da Região Oeste do Paraná. As amostras foram coletadas com agulhas 40X1,2mm e seringas de 10mL. Após a coleta, o sangue foi armazenado em tubos de ensaio devidamente identificados e mantidos sob refrigeração até o processamento. Durante a coleta foram coletadas informações como idade, raça e histórico de aborto de cada animal coletado.

Durante o período de coleta ocorreram 17 abortos bovinos em nove propriedades, sendo cinco propriedades localizadas em Palotina, duas em Cascavel, uma em Toledo e uma em Marechal Cândido Rondon. Fragmentos de coração, cérebro e placenta desses fetos foram coletados, acondicionados em microtubos e armazenados a 20°C negativos. Após a coleta dos fetos foi realizada outra visita na propriedade para coletar o sangue da vaca que havia abortado, caso essa não tivesse sido uma das 10 selecionadas da respectiva propriedade, portanto, além das 600 amostras, foram coletadas mais oito amostras de sangue.

Ainda, foram coletadas amostras de 163 cães residentes em 52 propriedades (TABELA 2). Algumas propriedades não permitiram a coleta de sangue dos cães. As amostras dos cães foram coletadas através da punção da veia cefálica ou da veia jugular com agulhas 20X0,55mm e seringas de 5mL. Após a coleta o sangue foi armazenado em tubos de ensaio identificados e mantidos sob

refrigeração até o processamento. Durante a coleta foram obtidos dados dos animais como idade, sexo e raça.

TABELA 2: DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE SANGUE COLETADAS DE CÃES RESIDENTES EM PROPRIEDADES RURAIS DE CRIAÇÃO DE BOVINOS DE LEITE DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Cidade	Nº propriedades	Nº propriedades coletadas	Nº animais coletados
Cascavel	18	17	68
Toledo	19	19	53
Marechal Candido Rondon	17	11	27
Palotina	6	5	15
Total	60	52	163

Fonte: A autora (2017).

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 1500rpm por 10min para a separação do soro, após, esses foram armazenados em microtubos a 20°C negativos até o processamento.

Foram coletados dados em um questionário epidemiológico das 60 propriedades para avaliar os principais fatores de risco associados com a neosporose, as principais informações coletadas foram: presença de cães nas propriedades, contato dos cães com os bovinos, tamanho do rebanho, manejo reprodutivo e do rebanho, produção leiteira, entre outros (ANEXO I).

2.4. ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Para análise sorológica das amostras foi realizada a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) tanto para as amostras dos bovinos como para as amostras dos cães.

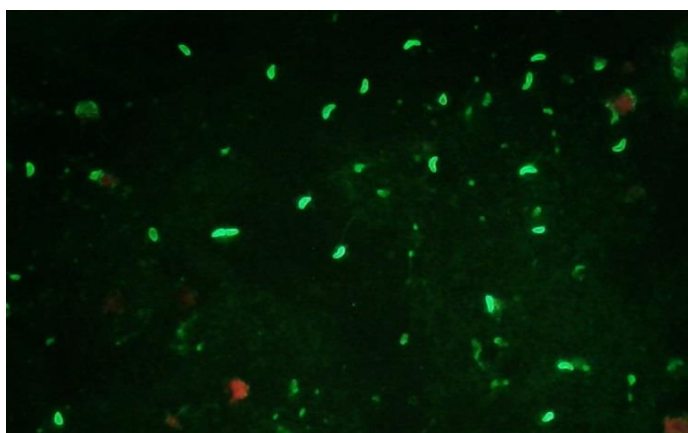
As lâminas de RIFI foram adsorvidas com taquizoítos de *N. caninum* cepa Nc-1, fixadas com metanol e armazenadas a 20°C negativos.

Cada amostra de soro foi diluída com a solução de diluição (0,0084M Na₂HPO₄, 0,0018M NaH₂PO₄, 0,146M NaCl e 1% BSA) em série de razão 2 (1:50, 1:100, 1:200, 1:400...), em seguida 20µL foram adicionados em cada poço da lâmina de imunofluorescência e incubado por 30min a 37°C, após foram realizadas três lavagens com uma solução de lavagem (0,0268M Na₂CO₃, 0,0975M NaHCO₃ e 0,036M NaCl), a lâmina foi seca em estufa a 37°C e então foram adicionados 20µL do conjugado anti-IgG bovino e canino *Sigma* (diluição 1:1000 para bovinos e 1:300 para cães, a solução de diluição utilizada foi o Azul de Evans 0,02mg/ml) e incubado

durante 30min a 37°C, em seguida foram realizadas três lavagens com a solução de lavagem e a lâmina foi seca em estufa a 37°C. Após, foi colocada uma lamínula com duas gotas de glicerina tamponada (90%) e realizada a leitura em microscópio de epifluorescência em um aumento de 400X (PARÉ et al., 1995).

Foram consideradas amostras positivas aquelas que tiveram total fluorescência dos taquizoítos a partir da diluição 1:100 para bovinos e 1:50 para cães, sendo negativas as amostras que apresentavam apenas reação apical (ACOSTA et al., 2016; CAMILLO et al., 2010) (FIGURA 1).

FIGURA 1: REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA *Neospora caninum* POSITIVA



Fonte: A autora (2016).

Para a análise dos fetos foi realizada a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR). Para isso, cerca de cinco gramas dos órgãos coletados (coração, cérebro e placenta) foram macerados individualmente e em seguida foi realizada a extração de DNA utilizando o *kit* comercial *DNeasy Blood and Tissue* (Qiagen). Para a PCR, a região Nc5 (5,10) foi selecionada como sequência alvo para a amplificação de DNA. Para isso foram utilizados os *primer's* Np21/Np6 (5'-CCCAGTGCGTCCAATCCTGTA-3')/(5'-CTCGCCAGTCAACCTACGTCTTCT-3') (MULLER et al., 1996). A reação foi realizada com um volume final de 50µL, contendo tampão 10X, 200µM DNTP, 1,5mM MgCl₂, 20µM de cada primer, 1,25U Taq, com desnaturação inicial a 95°C-5min, 40 ciclos a 94°C-1min/63°C-1min/74°C-3,5min e extensão final a 74°C-10min. As amostras amplificadas foram submetidas à eletroforese em gel de agarose (1,5%) para visualização. Os controles positivos utilizados foram taquizoítos da cepa Nc-Bahia, e como controle negativo foi utilizada água ultrapura autoclavada.

Para o sequenciamento foi selecionada uma amostra positiva de cada propriedade e enviada para a empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. (Centro

de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS). Foi utilizado o sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer armado com capilares de 50cm e polímero POP7 (Applied Biosystems). Os DNA-moldes foram marcados utilizando-se 2,5pmol dos *primers* Np21/Np6 (5'-CCCAGTGCGTCCAATCCTGTA-3')/(5'-CTCGCCAGTCAACCTACGTCTTCT-3') e 0,5µL do reagente BigDye Terminator v3. 1 Cycle Sequencing Standart (Applied Biosystems) em um volume final de 10µL. As reações de marcação foram realizadas em termociclador LGC XP Cyclor com uma etapa de desnaturação inicial a 96°C por 3 min seguida de 25 ciclos de 96°C por 10 seg, 55°C por 5 seg e 60°C por 4min. Uma vez marcadas, as amostras foram purificadas pela precipitação com isopropanol a 75% e lavagem com etanol a 60%. Os produtos precipitados foram diluídos em 10µL de formamida Hi-Fi (Applied Biosystems), desnaturados a 95°C por 5min, resfriados em gelo por 5min e eletroinjetados no sequenciador automático. Os dados de sequenciamento foram coletados utilizando-se o programa Data Collection 2 (Applied Biosystems) com os parâmetros Dye Set "Z"; Mobility File "KB_3500_POP7_BDTv3.mob"; BioLIMS Project "3500_Project1"; Run Module 1 "FastSeq50_POP7_50cm_cfv_100"; e Analysis Module 1 "BC- 3500SR_Seq_FASTA.saz".

2.5. PESQUISA DE FATORES DE RISCO

Os resultados encontrados e os dados do questionário epidemiológico foram analisados no programa EpiInfo (versão 7.2.0.1), através do qui-quadrado tabelado na ordem 2x2 e correção de Yates, com o objetivo de avaliar os principais fatores de risco relacionados com a neosporose em bovinos leiteiros e cães de propriedades rurais do Oeste do Paraná.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO

A soroprevalência, com base na Reação de Imunofluorescência Indireta, do *N. caninum* em bovinos leiteiros da região Oeste do Estado do Paraná foi de 23,67% (142/600) (ponto de corte 1:100). A cidade que apresentou maior prevalência foi Palotina, seguida de Cascavel, Toledo e Marechal Candido Rondon (Tabela 3).

Das 60 propriedades pesquisadas, 80% (48) possuíam pelo menos um bovino que apresentou sorologia positiva para o protozoário *N. caninum*. Todas as propriedades pesquisadas da cidade de Palotina foram positivas, já as cidades de Cascavel, Toledo e Marechal Cândido Rondon apresentaram percentuais de positividade próximos a 77% (TABELA 3).

TABELA 3: PREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Cidade	Animais			Propriedades		
	Positivos	Negativos	%	Positivas	Negativas	%
Cascavel	45	135	25,00	14	4	77,78
Toledo	40	150	21,05	15	4	78,95
Marechal Candido Rondon	34	136	20,00	13	4	76,45
Palotina	23	37	38,33	6	0	100,00
Total	142	458	23,67	48	12	80,00

Fonte: A autora (2017).

No Brasil, nos estudos realizados nos últimos anos, a ocorrência do parasito em bovinos de leite varia de 10,9 a 50,74% dependendo do Estado, método de diagnóstico, ponto de corte utilizado e os principais fatores de risco que podem influenciar a doença na região, ainda o número de amostras analisadas também pode intervir nos resultados das pesquisas (TEIXEIRA et al., 2010; AGUIAR et al., 2011; AMARAL et al., 2012; BRUHN et al., 2013).

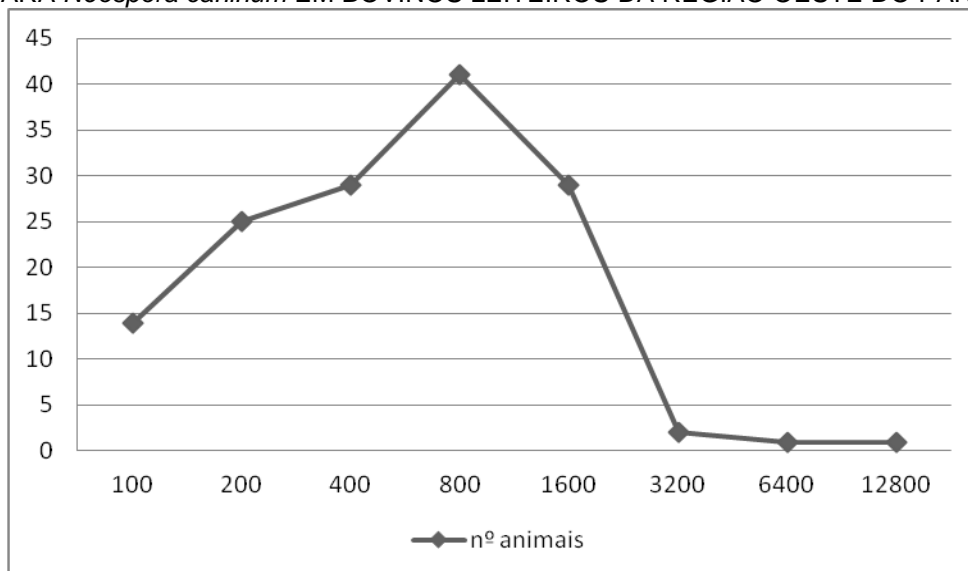
Raros são os trabalhos de prevalência de *N. caninum* em bovinos de leite no Paraná. Um dos motivos é o número de amostras coletadas, que na maioria das vezes permite somente a detecção de ocorrência e não de prevalência. Os últimos trabalhos realizados foram por Locatelli-Dittrich et al. em 2008, que encontraram uma prevalência de 33% quando analisaram 1263 amostras de todo o Estado do Paraná, pelo método de ELISA. Rocha et al. (2015) avaliaram amostras de 367 animais na região de Francisco Beltrão (Sudoeste do Paraná) e encontraram 35,1% das amostras positivas, percentual maior do que o encontrado na região Oeste, podendo ser justificado pelo ponto de corte, que foi de 1:50.

Camillo et al. em 2010 analisaram amostras somente da Região Sudoeste do Paraná, pela RIFI com ponto de corte 1:100, e encontraram uma prevalência de 24,2%. As prevalências semelhantes nas regiões Sudoeste e Oeste pode ser explicada pela proximidade, além de haver compra/venda de bovinos constante entre as duas regiões.

Quando analisadas as propriedades, Locatelli-Dittrich et al. em 2008 após coletar amostras de 77 propriedades no Estado do Paraná encontraram 77% das propriedades com pelo menos um animal positivo para o protozoário, resultado similar a esse estudo na região Oeste do Paraná. Já no Estado do Rio Grande do Sul, Corbellini et al. (2005) encontraram 93,3% de 60 propriedades com pelo menos um animal positivo.

A titulação dos bovinos variou de 100 a 12800, com um maior número de animais apresentando titulação de 800, seguida de 1600 e 400. Apenas um animal apresentou titulação 6400, assim como 12800 (FIGURA 2).

FIGURA 2: RESULTADO DAS TITULAÇÕES DA REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA PARA *Neospora caninum* EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ



Fonte: A autora (2017).

Koiwai et al. (2006) analisaram 2420 soros de bovinos através da Reação de Imunofluorescência Indireta para *N. caninum* e também encontraram um maior número de animais com titulação de 800, seguido de 1600 e 400. Porém outros autores encontraram uma maior frequência de titulações abaixo de 800 (KASHIWAZAKI et al., 2004; AGUIAR et al., 2006).

Títulos de anticorpos IgG igual ou acima de 800 geralmente estão associados com sinais clínicos da doença em bovinos (DUBEY, 1999; LINDSAY, 1999), contudo assim como verificado por Teixeira et al. (2010) nem todos os animais com titulações altas apresentaram histórico de aborto, entretanto esses podem estar gerando bezerros normais congenitamente infectados.

Níveis altos de anticorpos estão associados com a reativação e reconversão do bradizoíto em taquizoíto, que através da corrente circulatória irá atingir a placenta e o feto, essa fase geralmente ocorre do quarto ao quinto mês de gestação, porém

pode acontecer durante todo o período da prenhez, resultando em abortos ou nascimento de bezerros congenitamente infectados. Após o aborto os níveis de anticorpos tendem a diminuir (CONRAD et al., 1993; MCALLISTER, 2016).

Das 163 amostras de cães, provenientes das propriedades de bovinocultura de leite, 19 foram positivos para *N. caninum* através da Reação de Imunofluorescência Indireta (ponto de corte 1:50). A cidade que apresentou uma maior ocorrência foi Palotina, já os percentuais nas cidades de Cascavel, Toledo e Marechal Candido Rondon ficaram próximos entre si (TABELA 4).

Quando analisadas as propriedades, 28,84% (15:52) apresentaram pelo menos um cão soropositivo para o protozoário. Palotina também apresentou um percentual maior comparado com as outras três cidades (TABELA 4).

TABELA 4: OCORRÊNCIA DE *Neospora caninum* EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DE CRIAÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Cidade	Animais			Propriedades		
	Positivos	Negativos	%	Positivas	Negativas	%
Cascavel	8	60	11,76	5	12	29,41
Toledo	5	48	9,43	5	14	26,31
Marechal Candido Rondon	3	24	11,11	2	9	18,18
Palotina	3	12	20,00	3	2	60,00
Total	19	144	11,66	15	37	28,84

Fonte: A autora (2017).

Em alguns experimentos, cães após ingerirem tecido animal com cistos de *N. caninum* não soro converteram após eliminarem oocistos nas fezes (LINDSAY et al., 1999; DIJKSTRA et al., 2001; SCHARES et al., 2005). Em outro estudo realizado por Barber e Trees (1998) cães com títulos baixos de anticorpos contra o protozoário se tornaram soronegativos com o passar do tempo. Acredita-se que esses fatores podem levar a soroprevalência do *N. caninum* em cães ser baixa.

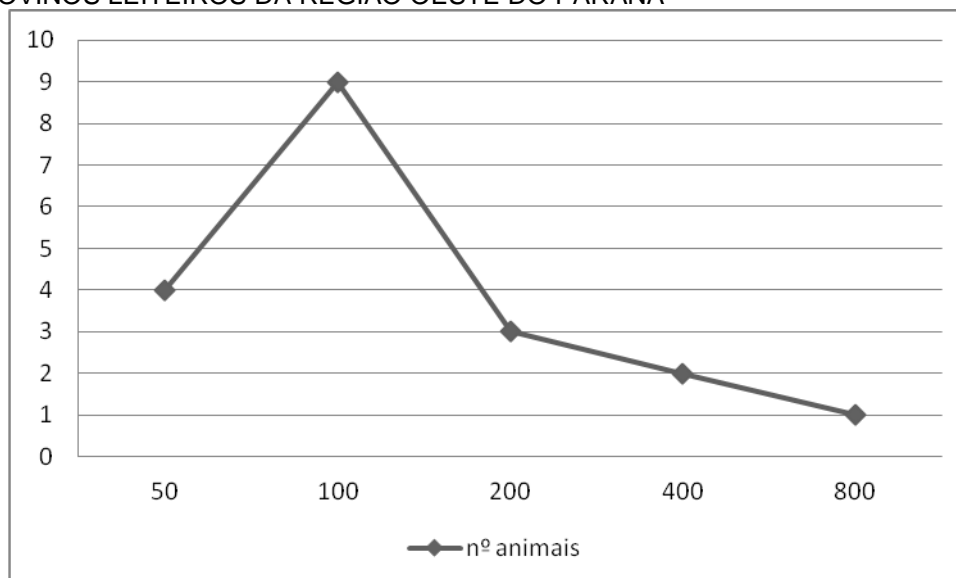
Diversos autores comparam a prevalência de *N. caninum* em cães de área urbana com os de cães de área rural, e essa geralmente é maior nos cães errantes ou domiciliados em fazendas, fato que está relacionado com o ciclo do parasito. Como a transmissão para os carnívoros se dá pelo consumo de carne crua ou restos fetais com cistos do protozoário, a chance de um cão se infectar na área rural é maior do que os cães da área urbana (FERNANDES et al., 2004; LASRI et al., 2004; KING et al., 2012; NOGUEIRA et al., 2013).

A ocorrência do protozoário em cães encontrada por Locatelli-Dittrich et al. em 2008, em todo o Estado do Paraná, quando analisaram amostras de 129 animais de 35 propriedades, através da RIFI, foi de 25%, resultado considerado alto comparado com os encontrados nesse estudo.

Similar aos resultados encontrados nesse trabalho, no Oeste do Paraná, Acosta et al. (2016), no Espírito Santo, analisaram amostras de 187 cães de 30 propriedades e encontram uma ocorrência de 11,76%. E Nogueira et al. (2013) quando avaliaram a prevalência do protozoário em cães da área urbana e da área rural no Estado de Minas Gerais encontraram 11,4% das amostras positivas, sendo 13,78% em cães da área rural e 8,24% em cães da área urbana.

A titulação dos cães pela Reação de Imunofluorescência Indireta variou de 50 até 800, com um maior número de animais apresentando títulos de 100, seguido de 50 e 200. Somente dois animais apresentaram títulos de 400 e um animal apresentou 800 (FIGURA 3). Porém, Nogueira et al. (2013) encontraram títulos de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães variando de 50 a 6400, com um maior número de animais apresentando titulações de 50, já Acosta et al. (2016) encontraram um número maior de cães com títulos variando entre 800 e 1600.

FIGURA 3: RESULTADO DAS TITULAÇÕES DA REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA *Neospora caninum* EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DE CRIAÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ



Fonte: A autora (2017).

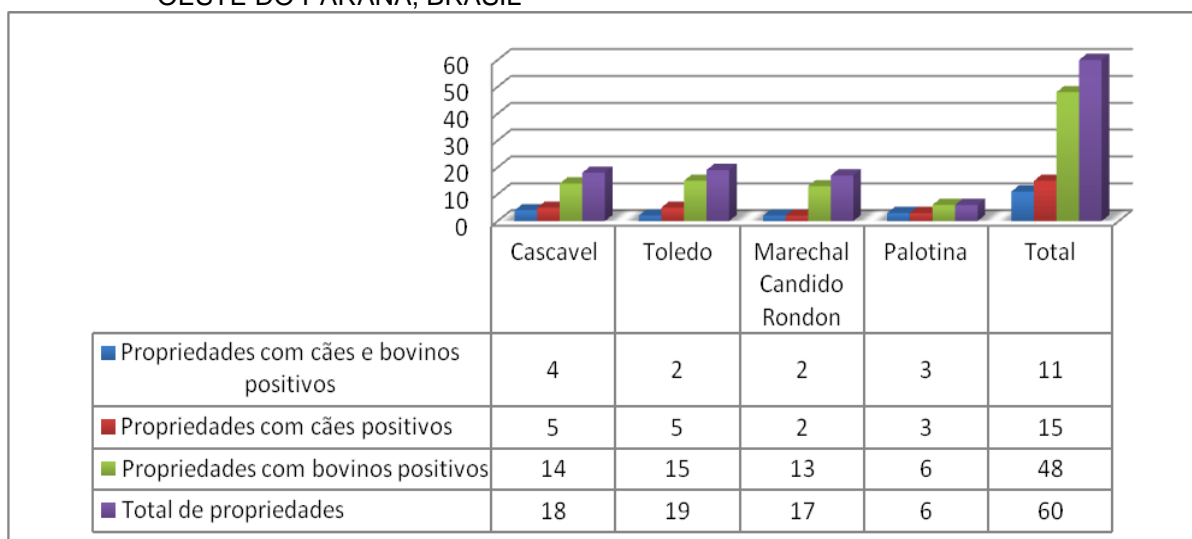
Quando correlacionadas as propriedades com cães soropositivos e com bovinos soropositivos percebeu-se que a maioria das propriedades que possuíam cães positivos também possuíam bovinos positivos (11/15) (FIGURA 4), porém a

presença de cães soropositivos para *N. caninum* não foi considerado um fator de risco, pois não apresentou significância estatística.

Outros trabalhos também avaliaram a soropositividade dos cães como fator de risco para a neosporose bovina e não encontraram diferença significativa (AGUIAR et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2004; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2008; BENETTI et al., 2009). Entretanto, alguns autores ressaltam uma maior prevalência de *N. caninum* em bovinos quando esses possuíam contato com cães, principalmente se esses fossem soropositivos, podendo os cães estarem envolvidos na transmissão da neosporose (PARÉ et al., 1998; WOUDA et al., 1999; SANCHEZ et al., 2003).

A não ocorrência de diferença significativa, pode ser um indicativo de que o protozoário se mantém no rebanho por transmissão vertical, não precisando, necessariamente, de um hospedeiro definitivo (PARÉ et al., 1997; MCALLISTER, 2016). Outro fator que se deve levar em consideração é a possibilidade da doença ser transmitida por cães errantes ou canídeos silvestres, que podem se alimentar de restos fetais com os bradizoítos do *N. caninum* e, após, disseminar os oocistos pelo pasto ou água (BENETTI et al., 2009; MCALLISTER, 2016). Ainda, pode estar relacionado com a soroconversão, pois alguns cães podem não soroconverterem ou soronegativarem, o que influenciaria nos resultados de ocorrência do protozoário em cães e a sua correlação com a soroprevalência em bovinos (BARBER e TREES, 1998; LINDSAY et al., 1999; DIJKSTRA et al., 2001; SCHARES et al., 2005).

FIGURA 4: CORRELAÇÃO DOS RESULTADOS DAS PROPRIEDADES COM CÃES E BOVINOS SOROPOSITIVOS, PROPRIEDADES COM CÃES SOROPOSITIVOS, PROPRIEDADES COM BOVINOS SOROPOSITIVOS E O TOTAL DE PROPRIEDADES COLETADAS DO OESTE DO PARANÁ, BRASIL



Fonte: A autora (2017).

Os fatores de risco relacionados com a infecção por *N. caninum* em bovinos leiteiros na região Oeste do Paraná foram: produção de leite: propriedades que produzem de 100 a 200 litros possuem 1,96 vezes mais chance de ter *N. caninum* do que outras propriedades; manejo reprodutivo: propriedades que utilizam inseminação artificial e touro tem 2,02 vezes mais chance de ter o protozoário do que propriedades que utilizam outro manejo reprodutivo, como somente touro, ou a associação de touro e inseminação artificial em tempo fixo; o tipo de produção: bovinos criados em produção extensiva possuem 1,76 vezes mais chance de ter neosporose; histórico de aborto: animais com histórico de aborto tem cerca de 3,81 vezes mais chance de ter o *N. caninum*; e raça: as Jerseys tem 2,18 vezes mais chance de ter *Neospora caninum* que outras raças (TABELA 5).

Os principais fatores de risco estão associados com o perfil de produção, em geral propriedades de produção familiar, com baixa produção de leite, criações extensivas, onde animais criados principalmente a pasto apresentam maior chance de contato com o protozoário.

Embora a raça Jersey, nesse estudo, tenha sido identificada como fator de risco para a infecção por *N. caninum*, este resultado reflete a amostragem, pois, foram coletadas amostras de sangue de uma pequena quantidade de animais dessa raça, duas propriedades possuíam apenas Jerseys e a maioria desses foram positivos.

Produção semi-intensiva e raça holandesa apresentaram-se como fatores de proteção. esses resultados podem ter sido influenciados pelo número de amostras coletadas que não se enquadravam nessas condições, como raça Jersey e produção extensiva que são fatores de risco.

Outros fatores analisados através do questionário epidemiológico como presença de cães na propriedade, contato com os cães, número de cães na propriedade, idade dos bovinos, reposição dos bovinos, entre outros, não apresentaram diferença significativa.

TABELA 5: FATORES DE RISCO RELACIONADOS COM *Neospora caninum* EM BOVINOS LEITEIROS DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Variáveis		Positivo	Negativo	%	OR	P
Propriedade						
Produção de leite	1-100L	7	23	23,33	Ns	1,000
	100-200L	25	45	35,71	1,96 (1,15-3,33)	0,017
	200-500L	55	185	22,92	Ns	0,799
	500-1000L	32	118	21,33	Ns	0,507
	>1000L	23	87	20,91	Ns	0,529
Manejo reprodutivo	Touro	44	126	25,88	Ns	0,486
	IATF	12	51	19,05	Ns	0,450
	IA	37	111	25,00	Ns	0,742
	IA e IATF	24	105	18,6	Ns	0,158
	IA e touro	22	38	36,67	2,02 (1,15-3,55)	0,019
Tipo de produção	IA, touro e IATF	3	27	10,00	Ns	0,112
	Extensiva	47	102	31,54	1,76 (1,14-2,60)	0,012
	Intensiva	29	90	24,37	Ns	0,935
	Semi-intensiva	66	266	19,88	0,62 (0,42-0,91)	0,019
Animal/Individual						
Contato com cães		115	377	23,37	Ns	0,814
Cães pos. na prop.		41	109	27,33	Ns	0,267
Histórico de aborto	Sim	59	72	45,04	3,81 (2,50-5,78)	<0,00
	Holandesa	121	422	22,28	0,49 (0,27-0,87)	0,021
Raça	Jersey	20	32	38,46	2,18 (1,20-3,95)	0,014
	Pardo Suíço	0	5	0	Ns	0,598

ns: não significativo; OR: Odds Ratio; p: probabilidade de significância; IA: inseminação artificial; IATF: inseminação artificial em tempo fixo

Fonte: A autora (2017).

Quarenta e um por cento dos bovinos soropositivos (59/142) apresentaram histórico de aborto, sendo este um importante fator de risco ($p < 0,000$) e o principal sinal clínico da neosporose em bovinos. Porém, quando correlacionado esse fator com a titulação não houve diferença significativa, embora numericamente a maioria dos animais com histórico de aborto apresentaram titulações de 400 e 1600 (TABELA 6).

TABELA 6: CORRELAÇÃO DA TITULAÇÃO DOS BOVINOS POSITIVOS PARA *Neospora caninum* E HISTÓRICO DE ABORTO EM PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Titulação	nº animais	%	Histórico de aborto	%
100	14	9,86	3	21,42
200	25	17,60	9	36,00
400	29	20,42	14	48,27
800	41	28,90	18	43,90
1600	29	20,42	13	44,83
3200	2	1,40	1	50,00
6400	1	0,70	1	100,00
12800	1	0,70	0	0
Total	142	100	59	41,54

Fonte: A autora (2017).

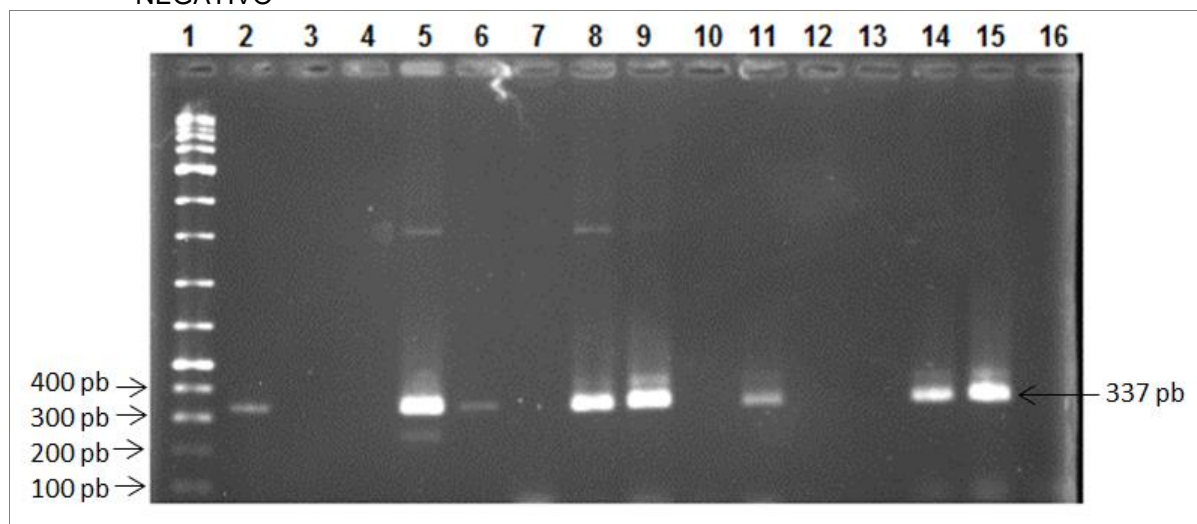
Os principais fatores de risco da infecção do *N. caninum* em cães encontrados por outros autores são idade: cães mais velhos geralmente possuem mais chances de ter o protozoário; alimentação: cães que consomem comida e/ou carne crua possuem mais chance de adquirir o parasito e contato com bovinos, pois são os principais hospedeiros intermediários do *N.caninum* (NOGUEIRA et al., 2013).

Contudo, nesse estudo os cães não apresentaram fatores de risco associados com o *N. caninum*. Os principais fatores pesquisados foram idade do animal, contato com bovinos, alimentação, sexo, se o cão fica preso ou solto, vacinação, raça, uso de vermífugo e histórico de doenças (ANEXO I).

3.2. FETOS BOVINOS ABORTADOS

Foram coletados 17 fetos de bovinos leiteiros em nove propriedades da região Oeste do Paraná, sendo quatro de propriedades da cidade de Cascavel, dois de uma propriedade de Toledo, um de uma propriedade de Marechal Cândido Rondon e 10 de propriedades de Palotina. Desses, 52,94% (9:17) foram positivos para *N. caninum* utilizando a técnica da PCR (FIGURA 5).

FIGURA 5: GEL DE AGAROSE (1,5%) COM OS RESULTADOS DO MATERIAL AMPLIFICADO DE TECIDO DE FETOS DE BOVINOS ABORTADOS, APRESENTANDO FRAGMENTOS DE 337PB, COMPATÍVEL COM *Neospora caninum*. 1) MARCADOR MOLECULAR 1KB; 2), 5), 6), 8), 9), 11), 14) AMOSTRAS DE CAMPO POSITIVAS; 3), 4), 7), 10), 12), 13) AMOSTRAS DE CAMPO NEGATIVAS; 15) CONTROLE POSITIVO; 16) CONTROLE NEGATIVO



Fonte: A autora (2016).

Para confirmar o resultado da PCR, uma amostra de cada propriedade foi sequenciada, todas apresentando alta similaridade (99%) com o protozoário.

O percentual encontrado é considerado alto comparado com outros trabalhos. Antoniassi et al. (2013) analisaram 490 fetos através da histopatologia e encontraram 32,6% positivos para *N. caninum*. Corbellini et al. (2000) encontraram 10% dos fetos positivos quando analisaram tecidos de 30 fetos pela técnica de imunoistoquímica, já Orlando et al. (2013) após analisar tecidos de 60 fetos através da PCR e imunoistoquímica encontraram 23,33% das amostras positivas para o protozoário. A alta positividade encontrada nesse trabalho pode ser devido à técnica utilizada, pois a PCR é uma técnica mais sensível e mais específica do que a histopatologia e a imunoistoquímica, principalmente quando os fetos já estão em autólise. Outro fator que pode ter influenciado no resultado é o número de fetos coletados. Ainda, duas propriedades localizadas em Palotina apresentaram um grande número de animais positivos para *N. caninum* com sintomatologia, ou seja, com quadros de aborto, sendo esses fetos coletados.

Foram analisados cérebro e coração dos 17 fetos e placenta de apenas três fetos, esse número sendo justificado pela dificuldade na coleta. Dos 17 fetos, nove foram positivos, pela PCR, no cérebro, cinco no coração e três na placenta. Todos os fetos que apresentaram resultado positivo no coração e placenta também apresentaram resultado positivo quando analisado o cérebro (TABELA 7).

TABELA 7: RESULTADO DA REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE PARA *Neospora caninum* DE 17 FETOS BOVINOS COLETADOS DE PROPRIEDADES RURAIS NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL.

Cidade	Propriedade	Titulação mãe	Idade feto	Sexo	PCR cérebro	PCR coração	PCR placenta
Cascavel	P01	Negativo	8	Macho	Positivo	Negativo	NR
	P01	Negativo	8	Macho	Negativo	Negativo	NR
	P01	Negativo	8	Fêmea	Negativo	Negativo	NR
Toledo	P02	Negativo	5	Fêmea	Negativo	Negativo	NR
	P03	Negativo	8	Fêmea	Negativo	Negativo	NR
	P03	Negativo	8	Fêmea	Negativo	Negativo	NR
M. C. Rondon	P04	Negativo	7	Fêmea	Negativo	Negativo	NR
Palotina	P05	3200	5	Fêmea	Positivo	Positivo	Positivo
	P06	1600	4	NI	Positivo	Negativo	Positivo
	P06	Negativo	7	Fêmea	Negativo	Negativo	NR
	P06	1600	8	Fêmea	Positivo	Positivo	NR
	P07	800	7	Fêmea	Positivo	Negativo	NR
	P07	1600	5	NI	Positivo	Positivo	NR
	P07	400	4	NI	Positivo	Positivo	Positivo
	P07	400	7	Macho	Positivo	Negativo	NR
	P08	800	5	Macho	Positivo	Positivo	NR
	P09	200	4	Macho	Negativo	Negativo	NR

NI: não identificado; NR: não realizado
 Fonte: A autora (2017).

O tecido animal mais afetado pelo *N. caninum* é o sistema nervoso central (MCALLISTER, 2016), por esse motivo este é o tecido onde o parasito é mais encontrado através de técnicas moleculares (SANTOS et al., 2011; ORLANDO et al., 2013; BROM et al., 2014). O protozoário também pode ser encontrado no coração, pois é um dos tecidos musculares que o *N. caninum* tem predileção. Amaral et al. (2012) encontraram, utilizando a PCR, uma maior positividade no coração do que no cérebro em fetos provenientes de abatedouros. Portanto, para o diagnóstico é importante avaliar e associar os resultados encontrados nos dois órgãos, para diminuir o número de falsos-negativos.

A placenta, para diagnóstico de causas de aborto, é um importante órgão que deve ser avaliado quando possível. É essencial ressaltar a coleta de material

adequada, pois são nos cotilédones que se pode encontrar a maioria dos patógenos responsáveis pelo aborto (MCALLISTER, 2016).

A idade com maior ocorrência (35,29%) dos abortos foi de oito meses, porém quando analisada a idade com o maior número de fetos positivos para *N. caninum* foi de cinco meses (75%), seguida de quatro meses (66,66%), sete meses (50%) e oito meses (33,33%). Esses resultados confirmam os encontrados por outros autores, além de ter correlação com o tempo de gestação em que há maior chance de ocorrer a reativação e reconversão do bradizoíto em taquizoíto no organismo da mãe, atingindo a placenta e em seguida o feto (ORLANDO et al., 2013; MCALLISTER, 2016).

Quando analisado o sexo, três fetos não foi possível identificar, pois muitas estruturas estavam degradadas. A maioria dos fetos coletados eram fêmeas (9:14), porém apenas 33,33% delas foram positivas para o protozoário estudado. Dos machos, 60% (3:5) foram positivos para *N. caninum*.

Um animal apresentou sorologia negativa para *N. caninum*, porém quando analisado o feto abortado, esse foi positivo, podendo ser explicado pelos falsos-negativos que a técnica de sorologia pode gerar, essa menos sensível que a técnica da PCR. Outro animal apresentou sorologia positiva, porém o feto foi negativo para o protozoário, podendo ser justificado pelo estado mumificado do feto, que pode ter gerado degradação do DNA do *N. caninum*, gerando resultados falso-negativos, outra justificativa é o resultado da sorologia ser um falso-positivo, pois esse é menos específico que a técnica da PCR.

4. CONCLUSÃO

Neospora caninum está amplamente distribuído pela região Oeste do Paraná, tanto em bovinos como em cães.

Não há correlação entre a presença de cães soropositivos para o protozoário nas propriedades e a sorologia dos bovinos nas mesmas propriedades.

Os principais fatores de risco da neosporose em bovinos na região Oeste do Paraná estão relacionados com a produção familiar, ou seja, propriedades pequenas, com baixa produção de leite e extensivas. Histórico de aborto também é um importante fator de risco para a doença.

Não foram identificados fatores de risco associados à infecção por *N. caninum* em cães de propriedades rurais avaliadas.

O protozoário pode ser comumente encontrado em diversos tecidos fetais, principalmente o cérebro. A idade de gestação com maior ocorrência de abortos por *N. caninum* foi entre quatro e cinco meses. E o agente foi encontrado mais em fetos machos do que em fêmeas.

5. REFERÊNCIAS

ACOSTA, I. C. L.; CONTODUCATTE, L. A.; SOARES, H. S.; MARCILI, A.; GONDIM, M. F. N.; ROSSI JUNIOR, J. L.; GENNARI, S. M. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs from rural properties surrounding a biological reserve, Espírito Santo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 4, p. 536-539, 2016.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; RODRIGUES, A. A. R.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 71-77, 2006.

AGUIAR, D. M.; LACERDA, D. P.; ORLANDELLI, R. C.; MEDINA, A. O.; AZEVEDO, L. H.; OKUDA, L. H.; CASTRO, V.; GENOVEZ, M. E.; PITUCO, E. M. Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in female bovines from the western São Paulo State, Brazil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p.183-189, 2011.

AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; SOUZA NETO, O. L.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 963-966, 2012.

ANTONIASSI, N. A. B.; JUFFO, G. D.; SANTOS, A. S.; PESCADOR, C. A.; CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 155-160, 2013.

BARBER, J. S.; TREES, A. J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 28, p. 57-64, 1998.

BENETTI, A. H.; SCHEIN, F. B.; SANTOS, T. R.; TONIOLLO, G. H.; COSTA, A. J.; MINEO, J. R.; LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; GENNARI, S. M. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, s. 1, p. 29-33, 2009.

- BROM, P. R. F.; REGIDOR-CERRILLO, J.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L. M.; GUIMARAES, M. V.; SILVA, A. C. Caracterização genética de *Neospora caninum* isoladas de amostras clínicas de fetos zebuínas obtidos em matadouros em Goiás, Brasil. **Parasitologia Veterinária**, v. 204, n. 3-4, p. 381-387, 2014.
- BRUHN, F. R. P.; DAHER, D. O.; LOPES, E.; BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 5, p. 1093-1098, 2013.
- CAMILLO, G.; CADORE, G.; CEZAR, A. S.; TOSCAN, G.; BRÄUNIG, P.; SANGIONI, L. A.; VOGEL, F. S. F. Antibodies to *Neospora caninum* in dairy cattle in Southwest of Paraná State. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, p. 1511-1513, 2010.
- CONRAD, P. A.; BARR, B. C.; SVERLOW, K. W.; ANDERSON, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J. P.; MUNSON, L.; ARDANS, A. In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. **Parasitology**, v. 106, n. 3, p. 239-249, 1993.
- CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.; DIAS, M. M. Aborto bovino por *Neospora caninum* no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.30, n.5, p.863-868, 2000.
- CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; SMITH, D. Neosporose bovina: estudo de fatores de risco em 60 propriedades leiteiras no estado do Rio Grande do Sul e levantamento de causas de aborto bovino com ênfase em *Neospora caninum*. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 33, n. 2, p. 231-232, 2005.
- DIJKSTRA, T. H.; EYSKER, M.; SCHARES, G.; CONRATHS, F. J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 647-752, 2001.
- DONAHOE, S. L.; LINDSAY, S. A.; KROCKENBERGER, M.; PHALEN, D.; SLAPETA, J. A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. **International journal for parasitology**, v. 4, p. 216-238, 2015.
- DUBEY J. P. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 8, n. 4, p. 349-367, 1999.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals - The last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p.90-108, 2011.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M; Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 323–367, 2007.
- FERNANDES, B. C. T. M.; GENNARI, S. M.; SOUZA, S. L. P.; CARVALHO, J. M.; OLIVEIRA, W. G.; CURY, M. C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in

dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais-Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 1-2, p. 33-40, 2004.

GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, p. 133–150, 2013.

GUIMARÃES, J. R.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n. 1-2, p.1-8, 2004.

IBGE. Banco de dados Agregados. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acessado em: 16 de novembro de 2016.

KASHIWAZAKI, Y.; GIANNEECHINI, R. E.; LUST, M.; GIL, J. Seroepidemiology of neosporosis in dairy in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 139-144, 2004.

KING, J. S.; BROWN, G. K.; JENKINS, D. J.; ELLIS, J. T.; FLEMING, P. J.; WINDSOR, P. A.; SLAPETA, J. Oocysts and high seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs living in remote Aboriginal communities and wild dogs in Australia. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 85–92, 2012.

KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; ZENIYA, Y.; ETO, M.; YOKOYAMA, R.; TSUTSUI, T.; KIMURA, K.; YAMANE, I. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 175-179, 2006.

LASRI, S.; De MEERSCHMAN, F.; RETTIGNER, C.; FOCANT, C.; LOSSON, B. Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 25-32, 2004.

LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1521-1523, 1999.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; MACHADO JR, P. C.; FRIDLUND-PLUGGE, N.; RICHARTZ, R. R. T. B.; MONTIANI-FERREIRA, F.; PATRÍCIO, L. F. L.; PATRÍCIO, M. A. C.; JOINEAU, M. G.; PIEPPE, M. Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, s. 1, p. 191-196, 2008.

MCALLISTER, M. M. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 443-463, 2016.

MONNEY, T.; HEMPHILL, A. Vaccines against neosporosis: what can we learn from the past studies? **Experimental Parasitology**, v. 140, p. 52-70, 2014.

MULLER, N.; ZIMMERMANN, V.; HENTRICH, B.; GOTTSTEIN, B. Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* Infection by PCR and DNA Hybridization Immunoassay. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 11, p. 2850–2852, 1996.

NOGUEIRA, C. I.; MESQUITA, L. P.; ABREU, C. C.; NAKAGAKI, K. Y.; SEIXAS, J. N.; BEZERRA, P. S.; ROCHA, C. M.; GUIMARAES, A. M.; PECONICK, A. P.; VARASCHIN, M.S. Risk factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs from urban and rural areas of milk and coffee production in Minas Gerais state, Brazil. **Epidemiology Infection**, v. 141, n. 11, p. 2286-2293, 2013.

ORLANDO, D. R.; COSTA, R. C.; SOARES, B. A.; OLIVEIRA, N. S. C.; NASCIMENTO, L. C.; PECONICK, A. P.; RAYMUNDO, D. L.; VARASCHIN, M. S. Abortos por *Neospora caninum* em bovinos do sul de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 11, p. 1332-1338, 2013.

PANADERO, R.; PAINCEIRA, A.; LÓPEZ, C.; VÁZQUEZ, L.; PAZ, A.; DÍAZ, P.; DACAL, V.; CIENFUEGOS, S.; FERNÁNDEZ, G.; LAGO, N.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONDO, P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). **Research in Veterinary Science**, v. 88, p. 111-115, 2010.

PARÉ, J.; FECTEU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 11, p. 1595-1598, 1998.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 7, p. 273-275, 1995.

PARÉ, J.; THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. **Journal of Parasitology**, v. 83, p. 82-87, 1997.

REICHEL, M. P.; AYANEGUI-ALCÉRRECA, A. M.; GONDIM, L. F.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 133-142, 2013.

ROCHA, J. X.; PIVOTO, F. L.; AIRES, A. R.; ROCHA, R. X.; FERREIRA, A. G. T.; LEAL, M. L. R. Levantamento sorológico de *Neospora caninum* em vacas da raça holandesa da microrregião de Francisco Beltrão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 3, p. 396- 399, 2015.

SÁNCHEZ, G. F.; MORALES, S. E.; MARTÍNEZ, M. J.; TRIGO, J. F. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 2, p. 142-145, 2003.

SANTOS, D. S.; ANDRADE, M. P.; VARASCHIN, M. S.; GUIMARAES, A. M.; HIRSH, C. *Neospora caninum* in bovine fetuses of Minas Gerais, Brazil: genetic characteristics of rDNA. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 281-288, 2011.

SCHARES, G.; PANTCHEV, N.; BARUTZI, D.; HEYDORN, A. O.; BAUER, C.; CONRATHS, F. J. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collectes from dogs in Germany. **International Jurnal for Parasitology**, v. 35, p. 1525-1537, 2005.

SPILOVSKÁ, S.; REITEROVÁ, K.; KOVÁCOVÁ, D.; BOBÁKOVÁ, M.; DUBINSKY, P. The first finding of *Neospora caninum* and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovakia. **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 320-323, 2009.

TEIXEIRA, W. C.; UZÊDA, R. S.; GONDIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVESIV, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalência de anticorpos anti *Neospora Caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.9, p. 729-734, 2010.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A. M. H.; VAN MAANEN, C.; BRINKHOF, J. M. A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal of Parasitology**, v. 29, p.1677–1682, 1999.

YU, X.; CHEN, N.; HU, D.; ZHANG, W.; LI, X.; WANG, B.; KANG, L.; LI, X.; LIU, O.; TIAN, K. Detection of *Neospora caninum* from Farm-Bred Young Blue Foxes (*Alopex lagopus*) in China. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 71, p. 113–115, 2009.

CAPÍTULO II: ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE *Trypanosoma vivax* EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO OESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

RESUMO

Hemoprotozoário que parasita principalmente os bovinos, o *Trypanosoma vivax* é transmitido por insetos hematófagos, principalmente os Tabanidae e *Stomoxys calcitrans*, ou por agulhas contaminadas. Os principais sinais clínicos da doença são anemia severa e aborto. No Brasil o parasito está presente em diversos Estados. No Pantanal, localizado no Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, e em Minas Gerais a doença é endêmica. Também já foi diagnosticado no Estado de São Paulo e no Rio Grande do Sul. No Paraná ainda não há relato do parasito, porém como o Estado possui fronteiras com Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraguai e Argentina acredita-se que o protozoário circula na região sem diagnóstico. O objetivo desse trabalho foi pesquisar a prevalência do *T. vivax* em bovinos leiteiros da região Oeste do Paraná e conhecer os fatores de risco relacionados à infecção. Para isso, foram coletadas 600 amostras de sangue e 400 amostras de soro de bovinos leiteiros, distribuídos em 60 e 40 propriedades, respectivamente, e aplicado um questionário epidemiológico para avaliar os fatores de risco. Foi realizado esfregaço de capa leucocitária das amostras de sangue e Reação de Imunofluorescência Indireta das amostras de soro. Todas as amostras, em ambas as técnicas, apresentaram resultado negativo para o *T. vivax*. Esses resultados indicam que o hemoprotozoário pesquisado não está circulando entre os bovinos de leite da região Oeste do Paraná. Porém, novos trabalhos com bovinos de corte devem ser realizados e medidas preventivas devem ser adotadas para evitar a entrada do parasito no Estado do Paraná.

Palavras-chave: esfregaço capa leucocitária, hemoprotozoário, RIFI, tripanossomose

ABSTRACT

Hemoprotozoal that mainly parasitize cattle, *Trypanosoma vivax* is transmitted by hematophagous insects, mainly Tabanidae and *Stomoxys calcitrans*, or by contaminated needles. The main clinical signs of the disease are severe anemia and abortion. In Brazil the parasite is present in several states. In the Pantanal, located in Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, and in Minas Gerais, the disease is endemic. It has also been diagnosed in the State of São Paulo and Rio Grande do Sul. In Paraná there is still no report of the parasite, but due to the state borders with Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraguay and Argentina, it is believed that the protozoan circulates in the region without diagnosis. The objective of this study was to investigate the prevalence of *T. vivax* in dairy cattle in the western region of Paraná and to know the risk factors related to the infection. For this, 600 blood samples and 400 serum samples of dairy cattle, distributed in 60 and 40 properties, respectively, were collected, and an epidemiological questionnaire was applied to evaluate the risk factors. It was performed leukocyte coat smear on the blood samples and Indirect Immunofluorescence Reaction of the serum samples. All samples, in both techniques, presented negative results for *T. vivax*. These results indicate that the hemoprotozoan researched is not circulating among the cattle of the western region

of Paraná. However, new work with beef cattle must be carried out and preventive measures should be adopted to avoid the entry of the parasite in the State of Paraná.

Key words: IFAT, leukocyte cover, hemoprotozoal, smear, trypanosomiasis

1. INTRODUÇÃO

Trypanosoma vivax é um hemoprotozoário flagelado, que infecta principalmente bovinos, causando quadros graves de anemia e abortos. Além dessa espécie animal, também pode infectar pequenos ruminantes, equinos e animais silvestres (GIORDANI et al., 2016).

A transmissão para os bovinos acontece por insetos hematófagos. No Brasil os principais são os Tabanidae e os *Stomoxys calcitrans*, atuando somente como vetores mecânicos (BIRHANU et al., 2015), porém também podem ser transmitidos por agulhas infectadas (ZAPATA et al., 2009).

Devido ao modo de transmissão, a disseminação do parasito acontece de forma rápida, infectando diversos animais dentro de um rebanho e levando a casos de surtos (SILVA, 2006).

A doença possui alta morbidade e letalidade, principalmente quando há o primeiro contato entre o parasito e o hospedeiro. Os principais sinais clínicos observados são anemia severa, aborto, anorexia, sinais neurológicos, aumento das frequências cardíaca e respiratória, repetição de cio e retenção de placenta (SILVA et al., 1999; DAGNACHEW e BEZIE, 2015; HURTADO et al., 2016).

No Brasil já foi relatada a presença do protozoário em diversos Estados. A região do Pantanal, localizada no Mato Grosso do Sul, os Estados de Minas Gerais e São Paulo são os que apresentam um número maior de casos da doença (MARTINS et al., 2008; CADIOLI et al., 2012; BARBIERI et al., 2016).

O Paraná está localizado na região sul do Brasil, possuindo fronteiras com três Estados, Santa Catarina, São Paulo e Mato Grosso do Sul, e dois países, Paraguai e Argentina. É o terceiro maior produtor de leite do país, atrás apenas de Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Além da produção de leite, possui também grande produção de bovinos de corte, ocupando o nono lugar no *ranking* nacional (IBGE, 2016).

Até o momento não foram registrados casos de tripanosomose em bovinos no Estado do Paraná, porém como há grande trânsito de animais, principalmente do

Estado do Mato Grosso do Sul para o Paraná, supõe-se que a doença possa ocorrer, porém nunca foi relatada por falta de diagnóstico laboratorial.

O objetivo desse trabalho foi pesquisar a prevalência de *T. vivax* em bovinos leiteiros da região Oeste do Estado do Paraná, Brasil e associar a presença do parasito com fatores de risco.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Esse estudo está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná-Setor Palotina, com protocolo número 50/2014.

2.2. ÁREA DE ESTUDO E CALCULO DE AMOSTRAGEM

A região Oeste é a principal bacia leiteira do Estado do Paraná, sendo as cidades de Marechal Cândido Rondon, Toledo e Cascavel as maiores produtoras da região, além de estarem entre as 15 cidades com maior produção de leite do país (IBGE, 2016). Além da importância na produção de leite, a região fica próxima à fronteira de dois países, Argentina e Paraguai, e de um Estado, o Mato Grosso do Sul, portanto essa região foi a escolhida para o estudo de prevalência de *T. vivax*.

Para a definição do tamanho da amostra foi realizado o cálculo de amostragem utilizando o programa Epilnfo (versão 7.2.0.1), a prevalência esperada adotada foi de 20%, erro máximo esperado de 5%, intervalo de confiança de 95% e DEFF (*Design Effect*) 1,5, que deve ser utilizado quando não há coleta de amostras aleatoriamente, diminuindo o erro; tendo como resultado 369 amostras como número mínimo a ser coletado, porém foi utilizado um número de 400 animais para a realização da sorologia e 600 animais para o esfregaço de capa leucocitária, distribuídos em quatro cidades da Região Oeste do Paraná: Cascavel, Marechal Candido Rondon, Palotina e Toledo.

As propriedades, em cada cidade, foram selecionadas aleatoriamente, abrangendo desde a pequena produção até a produção em grande escala. Foi estipulado que seriam coletadas amostras de 10 animais em cada propriedade,

totalizando 60 propriedades para a realização do esfregaço da capa leucocitária e 40 propriedades para a realização da sorologia (TABELA 1).

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DAS PROPRIEDADES E ANIMAIS COLETADOS EM DIFERENTES CIDADES DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Cidade	Capa leucocitária		Sorologia	
	Nº prop. coletadas	Nº animais coletados	Nº prop. coletadas	Nº animais coletados
Cascavel	18	180	18	180
Toledo	19	190	9	90
M. C.	17	170	7	70
Rondon	6	60	6	60
Palotina				
Total	60	600	40	400

Fonte: A autora (2017).

2.3. COLETA DE AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de sangue da veia caudal de 600 vacas, provenientes de 60 propriedades de quatro cidades da Região Oeste do Paraná. As amostras foram coletadas com agulhas 40X1,2mm e seringas de 10mL. Após a coleta, o sangue de cada animal foi armazenado em dois tubos de ensaio, um com anticoagulante (EDTA 10%) e outro sem anticoagulante, eles foram devidamente identificados e mantidos sob refrigeração até o processamento.

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 1500rpm por 10min para separação do soro das amostras sem anticoagulante, e para a separação da capa leucocitária das amostras com EDTA. Em seguida, o soro foi armazenado em microtubos a 20°C negativos até o processamento.

2.4. ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Foram realizadas duas técnicas, uma para a procura do protozoário, ou seja, um método direto e outra para a pesquisa de anticorpos, sendo um método indireto. O método de direto foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal do Paraná, já o método indireto foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal de Minas Gerais.

Para a procura do antígeno foi realizada a extração do *Buffy Coat*, termo denominado para a camada leucoplaquetária, pois após a centrifugação, o protozoário, por diferença de densidade fica próximo a essa camada. Para isso foi centrifugado o sangue com anticoagulante a 1500rpm por 10min, então foi possível observar a formação de três camadas, uma contendo as hemácias, outra os leucócitos e plaquetas e a última era constituída pelo plasma. Em seguida foi

retirado todo o plasma (camada superficial) e com o auxílio de uma micropipeta foi colocada uma gota da capa leucocitária (*Buffy Coat*) em uma lâmina e realizando o esfregaço por *squash*. A lâmina foi seca em temperatura ambiente e corada com Panótico (*Laborclin*), a leitura foi realizada em microscópio óptico em aumento de 1000X.

O método sorológico realizado foi a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). As amostras de soro foram diluídas com PBS (tampão fosfato salino) na proporção 1:80, em seguida 20µL foram adicionados em cada poço da lâmina de imunofluorescência e incubado por 30min a 37°C em câmara úmida, seguida de lavagem por 5min com PBS e por 5min com água destilada, a lâmina foi seca e então foram adicionados 20µL do conjugado anti-IgG bovino marcado com isotiocianato de fluoresceína (*Sigma*), diluído 1:200 com Azul de Evans (1:50 em PBS Tween) e incubado durante 30min a 37°C, em seguida foram realizadas novamente as lavagens como descrito acima e a lâmina foi seca. Em seguida, foi colocada uma lamínula com duas gotas de glicerina tamponada (90%) e realizada a leitura em microscópio de epifluorescência em um aumento de 400 vezes. Amostras com total fluorescência em diluições $\geq 1:80$ são consideradas positivas (GARCIA et al., 2006).

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Após a análise dos 600 esfregaços de capa leucocitária e da sorologia das 400 amostras de soro de bovinos leiteiros da região Oeste do Paraná, todas as amostras apresentaram resultado negativo, para os dois testes empregados.

Esse resultado demonstra que o protozoário não está circulando entre os bovinos leiteiros da região.

T. vivax vem acometendo um maior número de bovinos de leite, principalmente fêmeas do que bovinos de corte, principalmente pela transmissão iatrogênica, em que o homem interfere e influencia na transmissão do protozoário, sendo o uso de ocitocina injetável durante a ordenha um dos principais responsáveis pela disseminação, devido o uso de agulhas e seringas infectadas (CIEP, 2016). Porém, o hemoprotozoário também pode acometer bovinos de corte, já relatado em diversos Estados (MARTINS et al., 2008), portanto estudos para a procura do protozoário em bovinos de corte no Estado do Paraná devem ser realizados, pois o transporte entre Estados desses animais é maior do que os bovinos de leite.

No Brasil, o primeiro relato da doença foi em 1946 no Estado do Pará (BOULHOSA, 1946) e em seguida foi diagnosticada em búfalos na região amazônica (SHAW e LAISON, 1972). Em 1995 houve o primeiro relato de surto de *T. vivax* na região centro-oeste do país, no Estado de Mato Grosso (SILVA et al., 1996). E logo em seguida, em 1997, foi diagnosticada no Mato Grosso do Sul (PAIVA et al., 1997). Até então se acreditava que a entrada do protozoário na região era recente, principalmente pela gravidade dos sinais clínicos, porém Wells et al. (1977) realizaram um estudo sorológico no Mato Grosso em 1975-1976 e mais da metade dos animais apresentaram resultados positivos para o protozoário. Portanto, é um indicativo de que o protozoário já circulava na região sem diagnóstico.

No Estado de Minas Gerais o primeiro relato foi em 2008 (CARVALHO et al., 2008) e desde então a prevalência da doença no Estado só vem aumentando (BARBIERI et al., 2016). Nos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul o primeiro registro da doença foi em 2008 e 2009, respectivamente (SILVA et al., 2009; CADIOLI et al., 2012). Apesar da doença ser recente nesses Estados, os prejuízos decorrente da doença já são grandes, principalmente em Minas Gerais, onde há uma ampla disseminação (ABRÃO et al., 2009).

Atualmente há casos de tripanosomose em diversos estados do Brasil, principalmente na região Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudoeste (GUEDES et al., 2008; CADIOLI et al., 2012; COSTA et al., 2013; BARBIERI et al., 2016). Nos Estados do Paraná e de Santa Catarina ainda não há relatos do parasito, porém a doença pode atingir essas regiões rapidamente, principalmente pelo transporte de animais entre Estados que é frequente.

Além do transporte de animais, os insetos hematófagos, como os Tabanidae e os *Stomoxys calcitrans*, são um dos principais responsáveis pela transmissão do *T. vivax* e estão distribuídos por todo o Estado do Paraná, assim como nos Estados vizinhos, a ocorrência desse inseto aumenta significativamente no verão, devido as condições climáticas favoráveis para reprodução (BIRHANU et al., 2015; TURCATEL et al., 2007).

Um dos principais problemas é que a tripanossomose é uma doença exótica no Estado, e o impacto causado por ela pode atingir grandes proporções, preocupando os médicos veterinários e pecuaristas, principalmente pela grande queda na produção e perda de vários animais (PAIVA et al., 2000; CARVALHO et

al., 2008). Em 1999, as perdas no Pantanal brasileiro chegavam a 190 milhões de dólares devido ao protozoário (SEIDL et al., 1999).

Para evitar a entrada do protozoário no Estado é necessário adotar medidas de prevenção e controle da doença. Para isso deve-se evitar o transporte de animais suspeitos ou de regiões onde a doença é endêmica, como Pantanal e Minas Gerais; é necessário realizar o controle de insetos hematófagos, principalmente no verão quando aumenta significativamente o número insetos e utilizar agulhas estéreis e descartáveis, evitando a reutilização, tanto para a coleta de sangue quanto para a vacinação e medicação dos animais (SILVA, 2006; ZAPATA et al., 2009; HURTADO et al., 2016).

É importante ainda, o diagnóstico correto e precoce da doença, para evitar a ampla disseminação do protozoário no rebanho e entre rebanhos e adotar o tratamento adequado para os animais afetados, pois animais não tratados podem se tornar portadores clínicos assintomáticos, facilitando ainda mais a disseminação (HURTADO et al., 2016).

Para o diagnóstico correto é importante associar os achados clínicos, o histórico do rebanho e a epidemiologia da região com os exames laboratoriais, que podem ser o ELISA, a Imunofluorescência Indireta, a Fixação de Complemento, o esfregaço sanguíneo, o método de Woo, o método de *Buffy Coat* e o aspirado de linfonodo. Ainda pode ser realizado o exame do feto através da PCR, caso haja aborto, porém pode resultar em falso-negativo devido à autólise (DAGNACHEW e BEZIE, 2015; HURTADO et al., 2016).

Ainda, durante o diagnóstico deve-se lembrar dos diagnósticos diferenciais que podem confundir e atrasar as medidas de controle e tratamento dos animais afetados, as principais são a babesiose, anaplasmoses, a teileriose, raiva e intoxicação por plantas (OIE, 2013; HURTADO et al., 2016).

4. CONCLUSÃO

O protozoário *T. vivax* não foi encontrado nos bovinos leiteiros da região Oeste do Estado do Paraná, avaliados neste experimento, por dois métodos de diagnóstico, um indireto e outro direto, a Reação de Imunofluorescência Indireta e o esfregaço de capa leucocitária, respectivamente.

Como ainda não há a presença do protozoário na região, medidas preventivas devem ser adotadas em todo o Estado para evitar a entrada do *T. vivax* e diminuir os prejuízos caso essa ocorra.

5. REFERÊNCIAS

ABRÃO, D. C.; CARVALHOS, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; SATURNINO, H. M.; RIBEIRO, M. F. B. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 672-676, 2009.

BARBIERI, J. M.; BLACON, Y. A. C.; BRUHN, F. R. P.; GUIMARÃES, A. M. seroprevalence of *Trypanosoma vivax*, *Anaplasma marginale*, and *Babesia bovis* in dairy cattle. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 564-573, 2016.

BIRHANU, H.; FIKRU, R.; SAID, M.; KIDANE, W.; GEBREHIWOT, T.; HAGOS, A.; ALEMU, T.; DAWIT, T.; BERKVENS, D.; GODDEERIS, B. M.; BUSCHER P. Epidemiology of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma vivax* in domestic animals from selected districts of Tigray and Afar regions, Northern Ethiopia. **Parasites Vectors**, v. 8, p. 212, 2015.

BOULHOSA, J. L. **Boletim DEMA**, jul.-nov, 1946.

CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M.R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JUNIO, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 118-124, 2012.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

CIEP: COORDENAÇÃO DE INFORMAÇÃO E EPIDEMIOLOGIA. Analise dos Informes Epidemiológicos mensais. Disponível em: http://www.adab.ba.gov.br/arquivos/File/Informes_2016/07.pdf. Acessado em: jan/2017.

COSTA, V. M.; RIBEIRO, M. F.; DUARTE, A. L.; MANGUEIRA, J. M.; PESSOA, A. F.; AZEVEDO, S. S.; BARROS, A. T.; RIET-CORREA, F.; LABRUNA, M. B. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 207-213, 2013.

DAGNACHEW, S. & BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. **African Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 7, p. 41-64, 2015.

GARCÍA, H.; GARCÍA, M. E.; PÉREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, É.; PÉREZ, H.; MENDONZA-LEÓN, A. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 100, n. 4, p. 297-305, 2006.

GIORDANI, F.; MORRISON, L. J.; ROWAN, T. G.; KONING, H. P.; BARRETT, M. P. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. **Parasitology**, v. 10, p. 1-28, 2016.

GUEDES, D. S. J.; ARAÚJO, F. R.; SILVA, F. J.; RANGEL, C. P.; BARBOSA NETO, J. D.; FONSECA, A. H. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the Northeastern region of the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 2, p. 105-109, 2008.

HURTADO, O. J. B.; CASTRO, P. D. J.; GIRALDO-RÍOS, C. Reproductive failures associated with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. **Veterinary Parasitology**, v. 229, p. 54–59, 2016.

IBGE. Banco de dados Agregados. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acessado em: 16 de novembro de 2016.

MARTINS, C. F.; MADRUGA, C. R.; KOLLER, W. W.; ARAUJO, F. R.; SOARES, C. O.; KESSLER, R. H.; MELO, E. S. P.; RIOS, L. R.; ALMEIDA, R. C. F.; LIMA, M. S. C.; BARROS, A. T. M.; MARQUES, L. C. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 51-56, 2008.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2013, Tripanosomosis. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2013. Capítulo 2.4.18. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Healthstandards/tahm/2.04.18TRYPANOSOMOSIS.pdf>.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO, L.; MORI, A. E.; BRUM, K. B.; BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: Acompanhamento clínico, laboratorial e anátomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2000.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; OSHIRO, E. T.; SALVADOR, S. C.; NAKASATO, L. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6 s. 1, p. 349, 1997.

SEIDL, A.; DÁVILA, A. M. R.; SILVA, R. A. M. S. Estimated financial impact of *Trypanosoma vivax* on the Brazilian Pantanal and Bolivian lowlands. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 269–272, 1999.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine Parasitology**, v. 66, n. 1, p. 25-33, 1972.

SILVA, A. S.; CASTAL, M. M.; POLENZ, M. F.; POLENZ, C. H.; TEIXEIRA, M. M. G.; LOPES, S. T. A.; MONTEIRO, S. G. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2550-2554, 2009.

SILVA, R. A. M. S. Approach on risk factors of bovine trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* en the Bolivian and Brazilian Pantanals. **Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 2, p. 153-162, 2006.

SILVA, R. A. M. S.; SILVA, J. A.; SCHNEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.; PEREIRA M. E. B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 5, p.561-562, 1996.

SILVA, R.A., RAMIREZ, L., SOUZA, S.S., ORTIZ, A.G., PEREIRA, S.R., DAVILA, A.M. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 87–93, 1999.

WELLS, E. A. Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. Transactions of the Royal Society of **Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p.448-449, 1977.

ZAPATA, R.; MESA, J.; MEJÍA, J.; REYES, J.; RÍOS, L. A. Frecuencia de infección por *Trypanosoma* sp. en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en cuatro hatos bufaleros de Barrancabermeja Colombia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 22, p. 25–32, 2009.

CAPÍTULO III: OCORRÊNCIA DE PARASITOS GASTRINTESTINAIS EM CÃES E ESTUDO DE FATORES DE RISCO EM PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

RESUMO

Os cães são susceptíveis a diversas espécies de endoparasitos que, além de interferirem no desenvolvimento do animal, podem propiciar o aparecimento de infecções secundárias resultante da imunossupressão. Parte desses parasitos são zoonoses, como o *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp. e a *Giardia* spp.. O objetivo desse trabalho foi verificar a ocorrência de enteroparasitos em cães de propriedades rurais do Oeste do Paraná, Brasil. Foram coletadas 120 amostras de fezes de cães de 46 propriedades rurais situadas nos municípios de Cascavel, Toledo, Marechal Cândido Rondon e Palotina. Foram realizados três métodos para a pesquisa de ovos, oo (cistos) e/ou larvas de endoparasitos, o método de Sheather, o método de Willis-Mollay e o Método de Hoffman, Pons e Janer. Ainda foram coletados dados em um questionário epidemiológico para detectar os principais fatores de risco associados. Das amostras analisadas 71,67% (86/120) foram positivas para endoparasitos, sendo os mais encontrados: *Ancylostoma* spp. (80,23%), *Trichuris vulpis* (20,93%), *Cystoisospora* spp. (17,44%), *Giardia* spp. (8,14%). Além desses parasitos também foram encontrados *Sarcocystis* spp., *Toxocara* spp., *Hymenolepis diminuta* e *Capillaria* spp. em um percentual menor. Pseudoparasitos como oocistos da família Adeleidae e *Eimeria* spp., e ovos da família Ascaridiidae também foram encontrados nas amostras de fezes. 29,07% (25/86) dos animais apresentaram infecção mista. Quando analisada a positividade no geral não foram encontrados fatores de risco associados, porém quando analisados os parasitos individualmente foi possível detectar os principais fatores relacionados com as endoparasitoses. Os resultados demonstram alta positividade de parasitos em cães, sendo alguns deles zoonoses, trazendo risco para os humanos.

Palavras-chave: Cães, Hoffman, Pons e Janer, parasitos, Sheather, Willis-Mollay

ABSTRACT

Dogs are susceptible to several species of endoparasites which, in addition to interfering with the development of the animal, may lead to the appearance of secondary infections resulting from immunosuppression. Part of these parasites are zoonosis, such as *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp. and *Giardia* spp.. The objective of this study was to verify the occurrence of enteroparasites in dogs of rural properties of the West of Paraná, Brazil. A total of 120 faecal samples were collected from 46 rural farms located in the municipalities of Cascavel, Toledo, Marechal Cândido Rondon and Palotina. Three methods were used to search for eggs, oo(cysts) and/or endoparasite larvae, the Sheather method, the Willis-Mollay method and the Hoffman, Pons and Janer method. Data were also collected in an epidemiological questionnaire to detect the main associated risk factors. Of the samples analyzed, 71.67% (86/120) were positive for endoparasites, being the most

found: *Ancylostoma* spp. (80.23%), *Trichuris vulpis* (20.93%), *Cystoisospora* spp. (17.44%), *Giardia* spp. (8.14%). In addition to these parasites, *Sarcocystis* spp., *Toxocara* spp., *Hymenolepis diminuta* and *Capillaria* spp. in a lower percentage were also found. Pseudoparasites such as oocysts of the family Adeleidae and *Eimeria* spp., and eggs of the Ascaridiidae family were also found in faeces samples. 29.07% (25/86) of the animals presented mixed infection. When the positivity was analyzed in general, no associated risk factors were found, however when analyzing the individual parasites it was possible to detect the main factors related to endoparasites. The results show high positivity of parasites in dogs, being some of them zoonosis, posing a risk for humans.

Key words: dogs, Hoffman, Pons and Janer, parasites, Sheather, Willis-Mollay

1. INTRODUÇÃO

Os endoparasitos são encontrados em diversas espécies de animais, inclusive o homem, sendo responsáveis por várias doenças de suma importância na atualidade e estão distribuídas por todo mundo (CURI et al., 2016). Os sinais clínicos variam de acordo com o parasito e com o estado geral do hospedeiro, sendo que hospedeiros imunocomprometidos apresentam sinais mais graves do que os hospedeiros saudáveis (LEAL et al., 2015).

Os cães são susceptíveis a várias espécies de endoparasitos. Esses podem interferir principalmente no desenvolvimento do animal. Geralmente a maioria dos cães são assintomáticos, porém podem apresentar sinais clínicos quando há uma grande carga parasitária ou quando o animal está imunossuprimido. Os endoparasitos podem ainda, predispor a várias infecções secundárias, prejudicando ainda mais a saúde do animal (LEAL et al., 2015).

Os principais parasitos gastrintestinais encontrados em cães são os *Ancylostoma* spp., *Trichuris* spp., *Toxocara* spp., *Cystoisospora* spp., *Giardia* spp. e *Dipylidium caninum*. Muitos desses possuem caráter zoonótico, sendo o *Ancylostoma* spp. responsável por causar a doença popularmente conhecida como “larva *migrans* cutânea” ou “bicho geográfico”. Já o *Toxocara* spp. causa a doença em humanos conhecida como “larva *migrans* visceral”. A *Giardia* spp. atinge principalmente crianças, idosos e imunocomprometidos, sendo uma das principais causas de surtos de diarreia em crianças que frequentam creches (MCCARTHY e MOORE, 2000; LABRUNA et al., 2006; CURI et al., 2016).

As principais formas de contaminação por parasitos gastrintestinais são pela ingestão de água ou alimentos contaminados, porém o homem ainda pode se

contaminar pelo contato direto com o parasito, onde larvas penetram pela pele, podendo migrar para diversos órgãos ou formar túneis subcutâneos, como no caso da larva *migrans* cutânea (CARVALHO e ROCHA, 2014; TELLERÍA et al., 2015; SOARES e TASCA, 2016).

Em propriedades rurais há um contato muito próximo de diversas espécies animais, incluindo as silvestres, podendo, os parasitos se disseminarem rapidamente, contaminando um grande número de animais e o homem (CORREA e PASSOS, 2001). Os cães, que na maioria das vezes vivem soltos, podem ser os principais responsáveis por carregar e disseminar esses parasitos no pasto e na água, essa podendo servir para consumo humano (ROBERTSON et al., 2000; LABRUNA et al., 2006).

O objetivo desse trabalho foi pesquisar a ocorrência de parasitos gastrintestinais em cães de propriedades rurais do Oeste do Paraná e correlacionar os resultados com um questionário epidemiológico, para avaliar os principais fatores de risco associados à parasitose.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná-Setor Palotina, com protocolo número 50/2014.

Foram coletadas 120 amostras de fezes de cães de 46 propriedades rurais da região Oeste do Paraná, distribuídas nas cidades de Cascavel, Toledo, Marechal Candido Rondon e Palotina (TABELA 1).

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO DE PROPRIEDADES E NÚMERO DE ANIMAIS EM QUE FORAM COLETADAS FEZES EM CADA CIDADE DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ

	Nº de propriedades	Nº de animais
Cascavel	17	59
Marechal Candido Rondon	9	17
Palotina	5	9
Toledo	15	35
Total	46	120

Fonte: A autora (2017).

As amostras de fezes coletadas foram armazenadas em recipientes com tampa de rosca e refrigeradas até análise, que ocorria em até sete dias após a coleta.

Foram anotados referentes ao sexo, raça e idade dos animais durante a coleta das amostras. Ainda, dados de um questionário epidemiológico foram anotados, como histórico da presença de endoparasitos nas fezes, frequência do uso de antiparasitários, ambiente onde os cães residem, se os animais já apresentaram alguma doença, entre outros (ANEXO I).

As amostras de fezes foram submetidas a três técnicas para a procura de ovos, oocistos, cistos e larvas de parasitos gastrintestinais: a técnica de Willis-Mollay, a de Hoffman, Pons e Janer e o método de Sheather.

A técnica de Willis-Mollay (1921) modificado tem como principal objetivo a detecção de ovos leves, os principais encontrados em cães são os ovos de *Ancylostoma* spp., *Trichuris* spp. e *Toxocara* spp., ainda podem ser encontrados oocistos de protozoários, como de *Cystoisospora* spp.

Para realizar esse método, foram utilizados cerca de dois gramas de fezes, diluídos com aproximadamente 60mL de solução hiperssaturada de cloreto de sódio (300g de NaCl/1000mL de água destilada), em seguida essa mistura foi filtrada, com o uso de peneira e gaze, e colocada em outro recipiente até formar um menisco, então foi colocada uma lâmina de microscopia sobre o menisco e esperado cerca de 15 minutos, para que os ovos e oocistos flutuassem. Após esse tempo, a lâmina foi invertida e então foi realizada a leitura de toda a lâmina em microscópio óptico em aumento de 100X.

A técnica de Hoffman, Pons e Janes (1934) modificado baseia-se na pesquisa de ovos pesados e larvas, principalmente os cestódeos, como as cápsulas ovígeras do *Dipylidium caninum*. Para esse método, foram utilizados cerca de dois gramas de fezes e diluídos com cerca de 100mL de água destilada, essa mistura foi filtrada com peneira e gaze, e transferida para um cálice, onde ficou por 24 horas para que os ovos e larvas pudessem sedimentar, então foi descartado o sobrenadante e colocada uma gota do sedimento em uma lâmina de microscópio, em seguida foi acrescentado uma gota de lugol (2%), que tem como principal objetivo corar ovos e larvas, colocado uma lamínula e realizada a leitura em microscópio óptico em aumento de 100X.

O Método de Sheather (1923) modificado busca principalmente oocistos e cistos de protozoários como da *Giardia* spp., *Cystoisospora* spp., *Neospora caninum* e *Sarcocystis* spp.. Para essa técnica foram utilizados cerca de dois gramas de fezes e misturadas com aproximadamente 12mL de solução de sacarose ($d=1,203\text{g/cm}^3$), a mistura foi filtrada com peneira e gaze e transferida para um tubo tipo *falcon*, foi centrifugado a 1600rpm por 10 minutos, e uma gota da superfície do sobrenadante foi colocada sobre uma lâmina, em seguida uma lamínula foi colocada na superfície da lâmina e foi realizada a leitura em microscópio óptico no aumento de 400X.

A análise estatística e a correlação dos dados do questionário epidemiológico com os resultados das análises das fezes dos cães foi realizada no programa EpiInfo (versão 7.2.0.1), através do qui-quadrado tabelado na ordem 2x2 e correção de Yates.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ocorrência de enteroparasitos em cães da região Oeste do Estado do Paraná foi de 71,67% (86:120). Quando analisadas as propriedades, 71,15% possuíam pelo menos um cão eliminando ovos/oo(cistos) de parasitos nas fezes (TABELA 2). A cidade de Palotina foi a que apresentou uma maior ocorrência de cães parasitados, já a cidade de Toledo foi a que teve um maior número de propriedades com cães positivos.

TABELA 2: OCORRÊNCIA DE ENTEROPARASITOS EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

Cidade	Animais			Propriedades		
	Positivos	Negativos	%	Positivas	Negativas	%
Cascavel	43	16	72,88	13	4	76,47
Toledo	25	10	71,42	13	2	86,66
Marechal Candido Rondon	11	6	64,7	7	2	77,78
Palotina	7	2	77,78	4	1	80
Total	86	34	71,66	37	9	71,15

Fonte: A autora (2017).

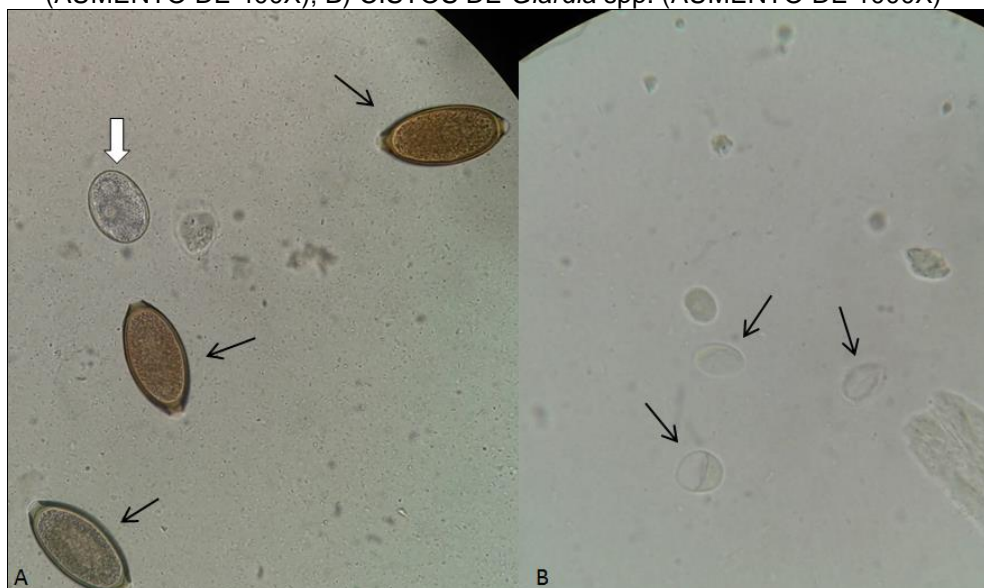
O percentual de positividade encontrado nesse trabalho é alto quando comparado com outros autores, como Frizzo et al. (2016) que encontraram 56% de

positividade quando analisaram 50 amostras de fezes de cães da área rural de Santa Catarina; Dubná et al. (2007) ao analisarem amostras de 540 cães da área rural em Praga, República Checa, e encontraram 41,7% das amostras positivas, e Curi et al. (2016) após realizarem exames coproparasitológicos de 129 cães da área rural de Minas Gerais e encontraram 58% das amostras positivas.

Alguns autores relatam um maior número de cães parasitados na área rural quando comparados com cães da área urbana (DUBNÁ et al., 2007). Porém, outros trabalhos encontram um grande número de cães domiciliados parasitados, como Ribeiro et al. (2015) no Estado do Paraná que encontraram 60,1% (74:123) dos cães da área urbana positivos para pelo menos um endoparasito e Labruna et al. (2006) no Estado de Rondônia que encontraram 84% das amostras positivas de cães da área urbana, positivities maiores do que as encontradas na área rural por diversos autores (DUBNÁ et al., 2007; FRIZZO et al., 2016; CURTI et al., 2016). Cães errantes presentes na área urbana também apresentam alta positividade para parasitos, como verificado por Pereira Junior e Barbosa (2013) quando avaliaram fezes de 80 cães errantes no Município de Manaus e todos foram positivos para parasitos gastrintestinais.

Os endoparasitos encontrados foram ovos de *Ancylostoma* spp., *Trichuris vulpis*, *Hymenolepis diminuta*, *Toxocara* spp. e *Capillaria* spp., oocistos de *Cystoisospora* spp. e *Sarcocystis* spp. e cistos de *Giardia* spp. (FIGURA 1).

FIGURA 1: OVOS E CISTOS DE ENTEROPARASITOS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL; A) SETA CLARA: OVO DE *Ancylostoma* spp., SETA ESCURA: OVOS DE *Trichuris vulpis* (AUMENTO DE 400X); B) CISTOS DE *Giardia* spp. (AUMENTO DE 1000X)



Fonte: A autora (2017).

Ancylostoma spp., *Toxocara* spp. e *Giardia* spp. são os principais enteroparasitos com potencial zoonótico e possuem grande importância na atualidade (BABÁ et al., 2013; RIBEIRO et al., 2015). Em propriedades rurais, cães possuem acesso a uma área ampla, podendo defecar próximo das verduras, frutas e água destinada ao consumo humano, gerando contaminação e favorecendo a disseminação dessas zoonoses. Portanto, medidas preventivas devem ser adotadas para evitar a transmissão para os seres humanos.

Espécies do gênero *Ancylostoma* podem causar em humanos a doença conhecida como “larva *migrans* cutânea”, quando larvas do terceiro estágio (L3) penetram através da pele e migram na epiderme, formando cordões eritematosos e pruriginosos (TELLERÍA et al., 2015). No Brasil há diversos relatos dessa infecção, principalmente no verão, quando aumenta o número de casos (HEUKELBACK et al., 2006; REICHERT et al., 2016).

A infecção por *Toxocara* spp. acontece quando o ser humano ingere os ovos embrionados junto com alimentos ou com a água, no intestino os ovos eclodem, e as larvas penetram através da parede atingindo a corrente circulatória e migram para vários órgãos podendo causar diversos sinais clínicos (CARVALHO e ROCHA, 2014). Há vários trabalhos que relatam a prevalência dessa infecção em humanos, sendo considerada alta em alguns estudos (SCHOENARDIE et al., 2013; CASSENOTE et al., 2014).

Já a giardíase, causada pelo protozoário *Giardia* spp., é transmitida principalmente através da ingestão de água e alimentos contaminados, o principal sinal clínico é a diarreia intermitente, acometendo principalmente crianças que frequentam creches, idosos e imunossuprimidos (CAMA e MATHISON, 2015; SOARES e TASCA, 2016).

Além dos ovos/oocistos/cistos dos enteroparasitos, também foram encontrados ovos e oocistos de pseudoparasitos como oocistos da família Adeleidae e *Eimeria* spp. e ovos da família Ascaridiidae, esses são considerados pseudoparasitos, pois não parasitam os animais, apenas foram ingeridos com alimentos contaminados e eliminados através das fezes (FIGURA 2).

FIGURA 2: PSEUDOPARASITOS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ. A) OVO DE PARASITO DA FAMÍLIA ASCARIDIIDAE (AUMENTO 400X); B) OOCISTO ESPORULADO E NÃO ESPORULADO DE ADELEIDAE (AUMENTO 1000X); C) OOCISTO ESPORULADO DE *Eimeria* spp. (AUMENTO DE 1000X); D) OOCISTOS ESPORULADOS DE ADELEIDAE (AUMENTO DE 1000X)



Fonte: A autora (2016).

Adeleidae são parasitos de invertebrados e a presença de oocistos desse parasito em fezes de cães indicam que esses possuem o hábito de ingerir insetos. Ovos da família Ascaridiidae e oocistos de *Eimeria* spp. podem sugerir o hábito de coprofagia desses animais, pois todos os oocistos de *Eimeria* spp. já estavam esporulados. Nijse et al. (2014) em seu estudo demonstram que a coprofagia é um comportamento generalizado entre os cães, e esse hábito pode levar a resultados errôneos nas análises coproparasitológicas. Já Gressler et al. (2009) ressaltam a importância do diagnóstico correto de coccídeos e realização da prova de esporulação em placa para diferenciar protozoários da família Adeleidae e Eimeriidae e assim evitar resultados falsos.

Os parasitos encontrados com maior frequência foram *Ancylostoma* spp., *Trichuris vulpis*, *Cystoisospora* spp. e *Giardia* spp.. 29% (25/86) das amostras

positivas apresentavam mais de uma espécie de parasito, ou seja, o animal possuía infecção mista. *Capillaria* spp., *H. diminuta* e *Sarcocystis* foram encontrados em apenas uma amostra (TABELA 3).

Ancylostoma spp. foi o parasito com maior ocorrência nesse trabalho, sendo o parasito mais frequente em cães, e o mais encontrado em diversos trabalhos (RIBEIRO et al., 2015; FRIZZO et al., 2016; CURI et al., 2016). Nos trabalhos de Labruna et al. (2006), Frizzo et al. (2016) e Curi et al. (2016) o *Toxocara* spp. foi um dos parasitos mais frequentemente encontrado, porém nesse trabalho, assim como no trabalho de Ribeiro et al. (2015), o *Trichuris vulpis* e o *Cystoisospora* spp. apresentaram um maior percentual de ocorrência, após o *Ancylostoma* spp..

TABELA 3: FREQUÊNCIAS DOS ENTEROPARASITOS ENCONTRADOS EM FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ, BRASIL

	Total amostras (n=120)			Total amostras positivas (n=86)		
	Positivo	Negativo	%	Positivo	Negativo	%
<i>Ancylostoma</i> spp.	69	51	57,5	69	17	80,23
<i>Capillaria</i> spp.	1	119	0,83	1	85	1,16
<i>Cystoisospora</i> spp.	15	105	12,5	15	71	17,44
<i>Giardia</i> spp.	7	113	5,83	7	79	8,14
<i>H. diminuta</i>	1	119	0,83	1	85	1,16
<i>Sarcocystis</i> spp.	1	119	0,83	1	85	1,16
<i>Toxocara</i> spp.	4	116	3,33	4	82	4,65
<i>Trichuris vulpis</i>	18	102	15	18	68	20,93
Pseudoparasito	6	114	5	6	80	6,97
Infecção mista	25	95	20,83	25	61	29,06

Fonte: A autora (2017).

Os percentuais encontrados de *Capillaria* spp. geralmente são baixos, estando associados com o ciclo do parasito (PAOLETTI et al., 2015; CURY et al., 2016). *Hymenolepis diminuta*, parasito principalmente de roedores, raramente é encontrado em cães, por esse motivo os percentuais são geralmente baixos (DOYLE et al., 2006; NQUI et al., 2014; ROJEKITTIKHUN et al., 2014).

Giardia spp. foi encontrado em um percentual menor do que em outros trabalhos (LABRUNA et al., 2006; FRIZZO et al., 2016). A baixa frequência de cistos de *Giardia* spp. encontrados em fezes de cães deve-se ao fato desse parasito ser

eliminado intermitentemente, portanto para o correto diagnóstico é recomendada a coleta de mais de uma amostra de fezes, em um período de no mínimo três dias. Bouzid et al. (2015) sugerem a utilização de outros métodos para o diagnóstico da parasitose devido à baixa eficiência do método de microscopia.

Sarcocystis spp. foi encontrado em apenas uma amostra, representando 1,16% das amostras positivas. Ribeiro et al. (2015) encontraram esporocistos desse protozoário em quatro animais, já Labruna et al. (2006) encontraram em 18,9% das amostras pesquisadas, percentuais maiores do que o encontrado nesse trabalho. Isso pode ter sido influenciado pela alimentação fornecida para os cães, favorecendo ou dificultando a infecção, pois esse parasito é transmitido pelo consumo de carne crua ou mal passada.

Das amostras coletas, 107 eram de cães adultos, sendo que 70,10% foram positivas para algum endoparasito. Quando analisadas as fezes dos filhotes, cerca de 84,61% (11/13) foram positivas. Apesar dos filhotes terem apresentando uma frequência maior de enteroparasitos, a idade não foi identificada como fator de risco nesse trabalho, pois não houve diferença significativa ($p=0,440$). Ribeiro et al. (2015) encontraram a idade como fator de risco para infecções de *Ancylostoma* spp. e *Trichuris vulpis*, com cães adultos apresentaram maior chance de ter o parasito. Já Curi et al. (2016) encontram uma maior chance de filhotes ter *Toxocara* spp. do que adultos.

A maioria das amostras de fezes era de cães machos e dessas 68,35% (54/79) foram positivas. As fêmeas, apesar de um número menor de amostras, apresentaram uma maior positividade, cerca de 78,04% (32/41). Ribeiro et al. (2015) também não encontraram diferença significativa entre os sexos dos animais. Já Curi et al. (2016) encontraram cães machos como fator de risco para infecções mistas.

A raça dos animais também não apresentou diferença significativa, 74,17% (89/120) dos cães coletados não apresentavam raça definida, e desses 76,40% eram positivos. Dos cães com raça definida o percentual de positividade foi menor, cerca de 58%. Esses resultados, apesar de serem apenas diferenças numéricas, podem demonstrar que proprietários apresentam um maior cuidado sanitário com cães de raça quando comparado com cães sem raça definida. Resultados semelhantes foram encontrados por Ribeiro et al. (2015) quando analisaram 123 amostras de cães domiciliados e encontraram um maior número de cães sem raça definida parasitados.

Durante a realização dos exames era anotada a consistência das fezes dos animais. A maioria apresentou aspecto normal. Seis apresentavam-se de pastosa a líquida e, dessas, cinco foram positivas e todas apresentavam infecção por protozoário. Quatro possuíam oocistos de *Cystoisospora* spp., uma continha cistos de *Giardia* spp., uma possuía oocistos de *Sarcocystis* spp. e duas amostras apresentavam ovos de helmintos, *Trichuris vulpis* e *Ancylostoma* spp..

A consistência das fezes pode estar associada com doenças parasitárias, principalmente as causadas por protozoário, pois o principal sinal clínico provocado por protozoários entéricos é a diarreia, geralmente por má absorção (PÉRCOPE, 2015). Fezes pastosas obteve associação com a infecção por alguns protozoários como o *Cystoisospora* spp. ($p=0,0004$), ou seja, um cão com fezes pastosas possuía 18,72 vezes mais chance de ter esse protozoário do que um cão com fezes normal. O *Sarcocystis* spp. é outro protozoário que também é encontrado com mais chance em fezes pastosas ($p=0,03$).

Quando avaliada a positividade no geral não houve fatores de risco envolvidos. Porém, quando analisados os fatores de risco por parasito, alguns foram considerados significativos (TABELA 4).

Nesse estudo infecções por *Toxocara* spp., *Capillaria* spp. e *Hymenolepis diminuta* não apresentaram fatores de risco associados, um dos motivos pode ser o número baixo de amostras positivas para esses parasitos.

Já o parasitismo por *Ancylostoma* spp. apresentou como principal fator de risco o fato do cão viver preso, com um OR (*Odds Ratio*) de 3,54. O fato do cão sempre estar no mesmo ambiente facilita a autoinfecção, devido o ambiente contaminado, justificando a associação de *Ancylostoma* spp. com essa condição, como já relatado por Pinto et al. (2007).

Os cães que vivem soltos possuem quatro e 11,38 vezes mais chance de estarem parasitados por *Cystoisospora* spp. e *Giardia* spp., respectivamente. Já os cães que ficam um período do dia soltos e outro período presos tem 3,71 vezes mais chance de um parasitismo por *Trichuris vulpis*. Esses resultados podem ser justificados pelo fato do animal livre ter uma maior chance de contato com outros animais ou com alimentos e água contaminadas com parasitos.

O histórico de enteroparasitos foi atribuído como um fator de risco para o *Trichuris vulpis*, com um OR de 5,55 e para as infecções mistas que possuem 3,56 vezes mais chance de acontecer quando há a presença desse fator.

TABELA 4: FATORES DE RISCO ASSOCIADOS COM ENTEROPARASITOS ENCONTRADOS EM AMOSTRAS DE FEZES DE CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DA REGIÃO OESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

Variáveis		<i>Ancylostoma</i> spp.		<i>Cystoisospora</i> spp.		<i>Giardia</i> spp.		<i>Sarcocystis</i> spp.		<i>Trichuris vulpis</i>		Infecção mista	
		OR***	p****	OR	p	OR	p	OR	p	OR	p	OR	p
Condição	preso	3,54 (1,1-11,3)	0,047	ns	0,138	ns	0,485	ns	1	ns	0,731	ns	1
	solto	ns*	1	4,00 (1,26-12,60)	0,027	11,38 (1,32-97,9)	0,02	ns	1	ns	0,08	ns	0,953
	preso e solto	ns	0,12	ns	0,446	ns	0,182	ns	0,933	3,71(1,23-11,2)	0,029	ns	1
Alimentação	Comida caseira	ns	0,625	ns	0,17	ns	0,658	ns	1	ns	0,562	ns	1
	Ração	ns	0,608	ns	0,26	ns	0,968	ns	1	ns	0,156	ns	0,277
	Comida e ração	ns	0,327	ns	1	ns	1	ns	1	ns	0,0057	ns	0,382
Histórico de verminose		Ns	1	ns	0,12	ns	0,851	ns	0,707	5,55(1,89-16,2)	0,002	3,56(1,43-8,87)	0,009
Uso de vermifugo	não utiliza	ns	0,192	ns	0,108	ns	0,676	ns	1	ns	0,344	ns	0,342
	3 meses	ns	0,37	ns	0,563	ns	0,316	ns	0,508	ns	0,133	ns	1
	6 meses	ns	0,548	ns	0,084	ns	1	ns	1	ns	0,224	ns	0,778
	1 ano	ns	0,285	4,86 (1,5-15,3)	0,01	6,59 (1,36-31,9)	0,03	ns	1	ns	0,537	ns	0,329
	> 1 ano	ns	0,65	ns	0,215	ns	0,316	ns	1	ns	0,342	ns	0,09
Consistência das fezes	Normal	ns	0,42	0,05 (0,008-0,32)	0,0004	ns	0,788	in**	0,03	ns	0,481	ns	0,197
	Pastosa	ns	0,42	18,72 (3,07-114,1)	0,0004	ns	0,788	in**	0,03	ns	0,481	ns	0,197
Histórico de doença		Ns	0,326	ns	0,81	ns	0,244	ns	0,579	6,44(2,21-18,7)	0,0006	ns	0,592

*ns: não significativo; **in: indefinido; ***OR: Odds Ratio; ****p: probabilidade de significância

Fonte: A autora (2017).

A utilização de vermífugo uma vez por ano foi fator de risco para dois protozoários, o *Cystoisospora* spp. (OR=4,86) e a *Giardia* spp. (OR=6,59). Os vermífugos comumente utilizados por proprietários não são eficazes para o tratamento de protozoários entéricos, acredita-se que seja esse o motivo da associação com esse fator de risco. Já histórico de doenças, como viroses, foram fatores de risco para o parasitismo por *Trichuris vulpis*, apresentando um OR de 6,44, podendo estar associado principalmente com o manejo sanitário, pois cães com condições de vida precárias possuem uma maior chance de estarem parasitados, como também de adquirir outras doenças (MENÃO et al., 2014).

4. CONCLUSÃO

A ocorrência de enteroparasitos em cães da região Oeste do Paraná é alta. Os principais parasitos encontrados foram *Ancylostoma* spp., *Trichuris vulpis*, *Cystoisospora* spp., *Toxocara* spp. e *Giardia* spp.

Pseudoparasitos como oocistos da família Adeleidae, *Eimeria* spp. e ovos da família Ascaridiidae foram encontrados em algumas amostras, indicando o hábito de coprofagia e entomogafia dos cães.

Os principais fatores de risco encontrados estão relacionados com a rotina de uso de vermífugos, histórico de verminose, condição de sobrevivência dos animais (livres ou presos), histórico de doenças e presença de carrapatos.

5. REFERÊNCIAS

ANDERSON, M. R.; MAY, R. M. Population biology of infectious diseases: Part I. **Nature**, v. 280, n. 2, p. 361-367, 1979.

BABÁ, A. Y.; OBARA, A. T.; SILVA, E. S. Levantamento do Conhecimento de Proprietários de Cães Domésticos Sobre Zoonoses. **UNOPAR Científica Ciências Humanas e Educação**, v. 14, n. 3, p. 251-258, 2013.

BOUZID, M.; HALAI, K.; JEFFREYS, D.; HUNTER, P. H. The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 3-4, p. 181-202, 2015.

CAMA, V. A.; MATHISON, B. A. Infections by Intestinal Coccidia and *Giardia* duodenalis. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 2, p. 423-444, 2015.

CARVALHO, E. A. A.; ROCHA, R. L. Visceral Larva Migrans Syndromes Associated with Toxocariasis: Epidemiology, Clinical and Laboratory Aspects of Human Toxocariasis. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 1, p.74-79, 2014.

CASSENTE, A. J. F.; DE ABREU LIMA, A. R.; PINTO NETO, J. M.; RUBINSKY-ELEFANT, G. Seroprevalence and Modifiable Risk Factors for *Toxocara* spp. in Brazilian Schoolchildren. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, 2014.

CORRÊA, S. H.R.; PASSOS, E. C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, pág. 493-499, 2001.

CURI, N. H. A.; PASCHOAL, A. M. O.; MASSARA, R. L.; SANTOS, H. A.; GUIMARÃES, M. P.; PASSAMANI, M.; CHIARELLO, A. G. Risk factors for gastrointestinal parasite infections of dogs living around protected areas of the Atlantic Forest: implications for human and wildlife health. **Brazilian Journal of Biology**, v. 15, 2016.

DOYLE, R. L.; MONTEIRO, S. G.; GRAÇA, D. L.; SANTURIO, J. M.; SILVA, A. S.; BERTOLIN, K. Helminthologic evaluation of mice (*Mus musculus*) raised in an experimental mouse house. **Revista da FZVA**, v.13, n.2, p. 108-115. 2006.

DUBNA, S.; LANGROVA, I.; NA'PRAVNI'K, J.; JANKOVSKA, I.; VADLEJCH, J.; PEKA'R, S.; FECHTNER, J. The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic, **Veterinary Parasitology**, v. 145, p. 120-128, 2007.

FRIZZO, C.; SCHIMIDT, A. P.; WAGNER, G.; MULLER, G. A. Intestinal parasites present in canine fecal samples collected in rural areas of municipalities in the midwest of Santa Catarina, Brazil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 45, n. 2, p. 227-232, 2016.

GRESSLER, L. T.; Da SILVA, A. S.; OLIVEIRA, C. B.; SOARES, J. F.; MONTEIRO, S.G. Occurrence of pseudoparasite coccidians in carnivores. **Archives of Veterinary Science**, v.14, n.2, p.91-95, 2009.

HEUKELBACK, J.; WILCKE, T.; FELDMEIER, H. Cutaneous larva migrans (creeping eruption) in an urban slum in Brazil. **International Journal of Dermatology**, v. 45, n. 7, p. 511-515, 2004.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Journal of Public Health**, v. 9, p. 281-289, 1934.

LABRUNA, M. B.; PENA, H. F. J.; SOUZA, S. L. J.; PINTER, A.; SILVA, J. C. R. RAGOZO, A. M. A.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p.183-193, 2006.

LEAL, P. D. A.; MORAES, M. I. M. R.; BARBOSA, L. L. O.; FIGUEIREDO, L. P.; SILVA, S. L.; LOPES, C. W. G. Parasitos gastrintestinais em cães domiciliados

atendidos em serviço de saúde animal, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, s. 1, n. 37-44, 2015.

MCCARTHY, J.; MOORE, T.A. Emerging helminth zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1351-1359, 2000.

MENÃO, M. C.; FARIA, T. L. S. A.; ALMEIDA, J. M. S.; CHIACCHIO, R. G.; ROCHA, A. Pesquisa de infecções parasitárias com potencial zoonótico em animais mantidos em habitações coletivas. **Atas De Saúde Ambiental**, v. 2, n. 1, p. 2-8, 2014.

NGUI, R.; LEE, S. C.; YAP, N. J.; TAN, T. K.; AIDIL, R. M.; CHUA, K. H.; AZIZ, S.; SULAIMAN, W. Y.; AHMAD, A. F.; MAHMUD, R.; LIAN, Y. L. Gastrointestinal parasites in rural dogs and cats in Selangor and Pahang states in Peninsular Malaysia. **Acta Parasitology**, v. 59, n. 4, p. 737-744, 2014

NIJSSE, R.; MUGHINI-GRAS, L.; WAGENAAR, J. A.; PLOEGER, H. W. Coprophagy in dogs interferes in the diagnosis of parasitic infections by faecal examination. **Veterinary Parasitology**, v. 204, n. 3-4, p. 304-309, 2014.

PAOLETTI, B.; TRAVERSA, D.; IORIO, R.; DE BERARDINIS, A.; BARTOLINI, R.; SALINI, R.; DI CESARE, A. Zoonotic parasites in feces and fur of stray and private dogs from Italy. **Parasitology Research**, v. 114, n. 6, p. 2135-2141, 2015.

PÉRCOPE, S. Diarreia aguda. **Pediatria moderna**, v. 51, n. 4, 2015.

PEREIRA JUNIOR, G.; BARBOSA, P. S. Prevalência de endoparasitas em cães errantes na cidade de Manaus-AM. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 4, n. 2, 2013.

PINTO, L. D.; MARQUES, S. M. T.; BIGATTI, L. E.; ARAUJO, F. A. P. Enteroparasitos de cães: prevalência e conhecimento dos proprietários sobre fatores epidemiológicos. **Veterinária em Foco**, v. 5, n. 1, p. 10-15, 2007.

REICHERT, F.; PILGER, D.; SCHUSTER, A.; LESSHAFFT, H.; GUEDES DE OLIVEIRA, S.; GNAUTIUS, R.; FELDMEIER, H. Prevalence and Risk Factors of Hookworm-Related Cutaneous Larva Migrans (HrCLM) in a Resource-Poor Community in Manaus, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, 2016.

RIBEIRO, C. M.; LIMA, D. E.; KATAGIRI, S. Infecções por parasitos gastrintestinais em cães domiciliados e suas implicações na transmissão zoonótica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 2, p. 238-244, 2015.

ROBERTSON, I. D.; IRWIN, P. J.; LYMBERY, A. J.; THOMPSON, R. C. A. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.1369-1377, 2000.

ROJEKITTIKHUN, W.; CHAISIRI, K.; MAHITTIKORN, A.; PUBAMPEN, S.; SANGUANKIAT, S.; KUSOLSUK, T.; MAIPANICH, W.; UDONSOM, R.; MORI, H. Gastrointestinal parasites of dogs and cats in a refuge in Nakhon Nayok, Thailand. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 45, n. 1, p. 31-39, 2014.

SCHOENARDIE, E. R.; SCAINI, C. J.; BROD, C. S.; PEPE, M. S.; VILLELA, M. M.; MCBRIDE, A. J. A.; BORSUK, S.; BERNE, M. E. A. Seroprevalence of *Toxocara* Infection in Children from Southern Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 99, n. 3, p. 537-539, 2013.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a floatation technique. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 36, n. 4, p. 266-275, 1923.

SOARES, R.; TASCA, T. Giardiasis: an update review on sensitivity and specificity of methods for laboratorial diagnosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 129, p. 98-102, 2016.

TELLERIA, R.; BUJAN, M. M.; CERVINI, A. B. Resolucion del caso presentado en el número anterior – Larva migrans cutânea. **Archivos Argentinos de Pediatría**, v. 113, n. 4, p. 375-377, 2015.

WILLIS, I. I. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Medical Journal of Austrália**, v. 8, p. 375-376, 1921.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Trabalhos epidemiológicos são de suma importância para avaliar a real situação das doenças em determinada região, além de verificar os principais fatores de risco associados com os patógenos.

Na região Oeste do Paraná são raros os estudos epidemiológicos realizados com animais de produção, como no caso da bovinocultura de leite, e são muitos os parasitos encontrados.

A bovinocultura perde muito na produção devido a problemas reprodutivos e esses podem estar associados com parasitos, como no caso do *Neospora caninum* e do *Trypanosoma vivax*.

Nesse estudo foi demonstrada uma ampla distribuição do *N. caninum* em bovinos leiteiros no Oeste do Paraná, uma vez que um grande percentual de propriedades possuem animais parasitados. Esse protozoário está associado principalmente com propriedades de perfil familiar, com baixa produção de leite e extensivas. Ele ainda está associado com o histórico de aborto das vacas, demonstrando que há a presença dos sinais clínicos da doença. Apesar dos cães serem os hospedeiros definitivos não houve associação entre a soropositividade dos bovinos e dos cães, resultados que podem demonstrar maior ocorrência de transmissão vertical do protozoário, lembrando que os canídeos silvestres também podem ser hospedeiros definitivos, contaminando os alimentos e a água.

Não foram encontrados tripomastigotas e/ou anticorpos contra o *T. vivax* em bovinos leiteiros do Oeste do Paraná, demonstrando que esse parasito ainda não está circulando entre os animais avaliados no presente trabalho na região. Por esse motivo, medidas preventivas devem ser adotadas para evitar a entrada do parasito e possíveis prejuízos econômicos.

A ocorrência de *N. caninum* em cães foi baixa quando comparada com a soropositividade dos bovinos, resultados que podem ser sido influenciados pela soroconversão, pois cães podem se infectar e não soroconverterem ou em raros casos, soronegativarem após um determinado período.

Já a ocorrência de parasitos gastrintestinais encontrados foi considerada alta e entre os principais endoparasitos encontrados estão alguns com potencial zoonótico, como o *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp. e *Giardia* spp.. Os fatores de

risco relacionados com os parasitos gastrintestinais estão principalmente envolvidos com as condições sanitárias, portanto medidas de controle e preventivas devem ser adotadas em propriedades rurais para evitar a disseminação dos endoparasitos e a contaminação humana.

6 REFERÊNCIAS

- ABRÃO, D. C.; CARVALHOS, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; SATURNINO, H. M.; RIBEIRO, M. F. B. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de minas gerais. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 672-676, 2009.
- ACOSTA, I. C. L.; CONTODUCATTE, L. A.; SOARES, H. S.; MARCILI, A.; GONDIM, M. F. N.; ROSSI JUNIOR, J. L.; GENNARI, S. M. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs from rural properties surrounding a biological reserve, Espírito Santo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 4, p. 536-539, 2016.
- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; RODRIGUES, A. A. R.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 71-77, 2006.
- AGUIAR, D. M.; LACERDA, D. P.; ORLANDELLI, R. C.; MEDINA, A. O.; AZEVEDO, L. H.; OKUDA, L. H.; CASTRO, V.; GENOVEZ, M. E.; PITUCO, E. M. Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in female bovines from the western São Paulo State, Brazil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p.183-189, 2011.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; SOUZA NETO, O. L.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 963-966, 2012.
- ANDERSON, M. R.; MAY, R. M. Population biology of infectious diseases: Part I. **Nature**, v. 280, n. 2, p. 361-367, 1979.
- ANDRIANARIVO, A. G.; MUIYA, P.; OPOLLO, M.; LOGAN-HENFREY, L. L. *Trypanosoma congolense*: comparative effects of a primary infection on bone marrow progenitor cells from N'Dama and Boran cattle. **Experimental Parasitology**, v. 80, p. 407-418, 1995.
- ANTONIASSI, N. A. B.; JUFFO, G. D.; SANTOS, A. S.; PESCADOR, C. A.; CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 155-160, 2013.
- BABÁ, A. Y.; OBARA, A. T.; SILVA, E. S. Levantamento do Conhecimento de Proprietários de Cães Domésticos Sobre Zoonoses. **UNOPAR Científica Ciências Humanas e Educação**, v. 14, n. 3, p. 251-258, 2013.
- BARBER, J. S.; TREES, A. J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 28, p. 57-64, 1998.

BARBIERI, J. M.; BLACON, Y. A. C.; BRUHN, F. R. P.; GUIMARÃES, A. M. seroprevalence of *Trypanosoma vivax*, *Anaplasma marginale*, and *Babesia bovis* in dairy cattle. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 564-573, 2016.

BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; NETO, A. M. R.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 63-69, 2008.

BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G.; MADRUGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 174-181, 2007.

BENETTI, A. H.; SCHEIN, F. B.; SANTOS, T. R.; TONIOLO, G. H.; COSTA, A. J.; MINEO, J. R.; LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; GENNARI, S. M. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, s. 1, p. 29-33, 2009.

BERNARDES, V. H. F.; PEREIRA, W. L. A.; BENIGNO, R. N. M.; MOURA, L. G. S.; QUEIROZ, D. K. S.; AGUIRRA, L. R. V. M.; ROLIN FILHO, S. T. Ocorrência de parasitas de importância zoonótica: *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp., em cães da região metropolitana de Belém, Pará. **Acta Veterinária Brasilica**, v. 9, n. 3, 2015.

BIRHANU, H.; FIKRU, R.; SAID, M.; KIDANE, W.; GEBREHIWOT, T.; HAGOS, A.; ALEMU, T.; DAWIT, T.; BERKVEN, D.; GODDEERIS, B. M.; BUSCHER P. Epidemiology of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma vivax* in domestic animals from selected districts of Tigray and Afar regions, Northern Ethiopia. **Parasites Vectors**, v. 8, p. 212, 2015.

BJÄRKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, p. 271-274, 1984.

BOULHOSA, J. L. **Boletim DEMA**, jul.-nov, 1946.

BOUZID, M.; HALAI, K.; JEFFREYS, D.; HUNTER, P. H. The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 3-4, p. 181-202, 2015.

BROM, P. R. F.; REGIDOR-CERRILLO, J.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L. M.; GUIMARAES, M. V.; SILVA, A. C. Caracterização genética de *Neospora caninum* isoladas de amostras clínicas de fetos zebuínas obtidos em matadouros em Goiás, Brasil. **Parasitologia Veterinária**, v. 204, n. 3-4, p. 381-387, 2014.

BRUHN, F. R. P.; DAHER, D. O.; LOPES, E.; BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in

dairy cattle in southeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 5, p. 1093-1098, 2013.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 12, p. 546-552, 2002.

CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JUNIO, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 118-124, 2012.

CAMA, V. A.; MATHISON, B. A. Infections by Intestinal *Coccidia* and *Giardia duodenalis*. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 2, p. 423-444, 2015.

CAMILLO, G.; CADORE, G.; CEZAR, A. S.; TOSCAN, G.; BRÄUNIG, P.; SANGIONI, L. A.; VOGEL, F. S. F. Antibodies to *Neospora caninum* in dairy cattle in Southwest of Paraná State. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, p. 1511-1513, 2010.

CANTÓN, G. J.; KATZER, F.; MALEY, S. W.; BARTLEY, P. M.; BENAVIDESSILVÁN, J.; PALAREA-ALBALADEJO, J.; PANG, Y.; SMITH, S. H.; ROCCHI, M. S.; BUXTON, D.; INNES, E. A.; CHIANINI, F. Inflammatory infiltration into placentas of *Neospora caninum* challenged cattle correlates with clinical outcome of pregnancy. **Veterinary Research**, v. 45, p. 11, 2014.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

CARVALHO, E. A. A.; ROCHA, R. L. Visceral Larva Migrants Syndromes Associated with Toxocariasis: Epidemiology, Clinical and Laboratory Aspects of Human Toxocariasis. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 1, p.74-79, 2014.

CASSENTE, A. J. F.; DE ABREU LIMA, A. R.; PINTO NETO, J. M.; RUBINSKY-ELEFANT, G. Seroprevalence and Modifiable Risk Factors for *Toxocara* spp. in Brazilian Schoolchildren. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, 2014.

CIEP: COORDENAÇÃO DE INFORMAÇÃO E EPIDEMIOLOGIA. Análise dos Informes Epidemiológicos mensais. Disponível em: http://www.adab.ba.gov.br/arquivos/File/Informes_2016/07.pdf. Acessado em: jan/2017.

CONRAD, P. A.; BARR, B. C.; SVERLOW, K. W.; ANDERSON, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J. P.; MUNSON, L.; ARDANS, A. In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. **Parasitology**, v. 106, n. 3, p. 239-249, 1993.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.; DIAS, M. M. Aborto bovino por *Neospora caninum* no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.30, n.5, p.863-868, 2000.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; SMITH, D. Neosporose bovina: estudo de fatores de risco em 60 propriedades leiteiras no estado do Rio Grande do Sul e levantamento de causas de aborto bovino com ênfase em *Neospora caninum*. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 33, n. 2, p. 231-232, 2005.

CORRÊA, S. H.R.; PASSOS, E. C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, pág. 493-499, 2001.

COSTA, V. M.; RIBEIRO, M. F.; DUARTE, A. L.; MANGUEIRA, J. M.; PESSOA, A. F.; AZEVEDO, S. S.; BARROS, A. T.; RIET-CORREA, F.; LABRUNA, M. B. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 207-213, 2013.

CURASSON, G. Traité de protozoologie vétérinaire et comparée. I. trypanosomes. Vigot Frères, Paris, 445 pp. 1943.

CURI, N. H. A.; PASCHOAL, A. M. O.; MASSARA, R. L.; SANTOS, H. A.; GUIMARÃES, M. P.; PASSAMANI, M.; CHIARELLO, A. G. Risk factors for gastrointestinal parasite infections of dogs living around protected areas of the Atlantic Forest: implications for human and wildlife health. **Brazilian Journal of Biology**, v. 15, 2016.

DAGNACHEW, S. & BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. **African Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 7, p. 41–64, 2015.

De VRIES, A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 10, p. 3876 - 3885, 2006.

DESQUESNES, M. & DÁVILA, A. M. R. Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: a review and perspectives. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 213–231, 2002.

DESQUESNES, M. & DIA, M. L. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 9-19, 2004.

DIAS, S. R. C.; CUNHA, D. E. S.; SILVA, S. M.; SANTOS, H. A.; FUJIWARA, R. T.; RABELO, E. M. L. Evaluation of parasitological and immunological aspects of acute infection by *Ancylostoma caninum* and *Ancylostoma braziliense* in mixed-breed dogs. **Parasitology Research**, v. 112, p. 2151-2157, 2013.

DIJKSTRA, T. H.; EYSKER, M.; SCHARES, G.; CONRATHS, F. J.; WOUDE, W.; BARKEMA, H. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 647-752, 2001.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; WOUDE, W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 209-215, 2001.

DONAHOE, S. L.; LINDSAY, S. A.; KROCKENBERGER, M.; PHALEN, D.; SLAPETA, J. A review of neosporosis and pathologic findings of *Neospora caninum* infection in wildlife. **International journal for parasitology**, v. 4, p. 216-238, 2015.

DOYLE, R. L.; MONTEIRO, S. G.; GRAÇA, D. L.; SANTURIO, J. M.; SILVA, A. S.; BERTOLIN, K. Helminthologic evaluation of mice (*Mus musculus*) raised in an experimental mouse house. **Revista da FZVA**, v.13, n.2, p. 108-115. 2006.

DUBEY J. P. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 8, n. 4, p. 349-367, 1999.

DUBEY, J. P. & SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p. 1–34, 2006.

DUBEY, J. P. Review of *N.caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**. v. 41, p.1-16, 2003.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKÅS, I.; BJO'RKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; MCALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 929–946, 2002.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, p. 1269-1285, 1988a.

DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and the experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, p. 1259-1263, 1988b.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; ANDERSON, M. L.; DAVIS, S. W.; SHEN, S. K. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, p. 709-713, 1992.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals - The last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p.90-108, 2011.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M; Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, p. 323–367, 2007.

DUBNA, S.; LANGROVA, I.; NA'PRAVNI'K, J.; JANKOVSKA, I.; VADLEJCH, J.; PEKA'R, S.; FECHTNER, J. The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic, **Veterinary Parasitology**, v. 145, p. 120-128, 2007.

EGUIA-AGUILAR, P.; CRUZ-REYES, A.; MARTÍNEZ-MAYA, J. J. Ecological analyses and description of the intestinal helminthes present in dogs in Mexico City. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 139-146, 2005.

ESIEVO, K. A. N.; SAROR, D. I.; ILEMOBADE, A. A.; HALLAWAY, M. H. Variation in erythrocyte surface and free serum sialic acid concentrations during experimental *T. vivax* infection in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 32, p. 1-5, 1982.

FARIAS, A. N. S.; SILVA, M.; OLIVEIRA, J. B. S.; ROCHA, L. B.; SANTOS, K. R. Diagnosis of gastrointestinal parasites in dogs from Bom Jesus, Piauí, Brazil. **Revista Academia, Ciências Agrárias e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 431-435, 2013.

FAUST, E. C.; D'ANTONI, J. S.; ODOM, V.; MILLER, M. J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; THOMEN, L. F.; TOBIE, J.; WALKER, H. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 18, p. 169-183, 1938.

FERNANDES, B. C. T. M.; GENNARI, S. M.; SOUZA, S. L. P.; CARVALHO, J. M.; OLIVEIRA, W. G.; CURY, M. C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais-Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 1-2, p. 33-40, 2004.

FERREIRA, F. P.; DIAS, R. C. F.; MARTINS, T. A.; CONSTANTINO, C.; PASQUALI, A. K. S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T. Frequency of gastrointestinal parasites in dogs and cats of Londrina, PR, focusing on public health. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, s. 2, p. 3851-3858, 2013.

FRIZZO, C.; SCHIMIDT, A. P.; WAGNER, G.; MULLER, G. A. Intestinal parasites present in canine fecal samples collected in rural areas of municipalities in the midwest of Santa Catarina, Brazil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 45, n. 2, p. 227-232, 2016.

GARCÍA, H.; GARCÍA, M. E.; PÉREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, É.; PÉREZ, H.; MENDONZA-LEÓN, A. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v. 100, n. 4, p. 297-305, 2006.

GIBNEY, E. H.; KIPAR, A.; ROSBOTTOM, A.; GUY, C. S.; SMITH, R. F.; HETZEL, U.; TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. the extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *N. caninum* infection in early and late gestacion correlates with foetal death. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 579-588, 2008.

GIORDANI, F.; MORRISON, L. J.; ROWAN, T. G.; KONING, H. P.; BARRETT, M. P. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. **Parasitology**, v. 10, p. 1-28, 2016.

GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, p. 133–150, 2013.

GRESSLER, L. T.; Da SILVA, A. S.; OLIVEIRA, C. B.; SOARES, J. F.; MONTEIRO, S.G. Occurrence of pseudoparasite coccidians in carnivores. **Archives of Veterinary Science**, v.14, n.2, p.91-95, 2009.

GUEDES, D. S. J.; ARAÚJO, F. R.; SILVA, F. J.; RANGEL, C. P.; BARBOSA NETO, J. D.; FONSECA, A. H. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the Northeastern region of the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 2, p. 105-109, 2008.

GUERRA, N. G.; MONTEIRO, M. F. M.; SANDES, H. M. M.; CRUZ, N. L. N.; RAMOS, C. A. N.; SANTANA, V. L. A.; SOUZA, M. M. A.; ALVES, L. C. Detecção de anticorpos IgG anti-*Trypanosoma vivax* em bovinos através do teste de Imunofluorescência indireta. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1423-1426, 2013.

GUIDO, S.; KATZER, F.; NANJIANI, I.; MILNE, E.; INNES, E. A. Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine Neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 2, p. 131-143, 2016.

GUIMARÃES JR. J. S.; SOUZAB, S.L.P.; BERGAMASCHIC, D.P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n.1–2, p. 1–8, 2004.

HEUKELBACK, J.; WILCKE, T.; FELDMEIER, H. Cutaneous larva migrans (creeping eruption) in an urban slum in Brazil. **International Journal of Dermatology**, v. 45, n. 7, p. 511-515, 2004.

HOARE C. A. **The tripanosomes of mammals: A zoological monograph**. Blackwell, Oxford, p. 1-749, 1972.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Journal of Public Health**, v. 9, p. 281-289, 1934.

HOUK, A. E.; LINDSAY, D. S. *Cystoisospora canis* (Apicomplexa: Sarcocystidae): Development of monozoic tissue cysts in human cells, demonstration of egress of zoites from tissue cysts, and demonstration of repeat monozoic tissue cyst formation by zoites. **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 455–461, 2013.

HURTADO, O. J. B.; CASTRO, P. D. J.; GIRALDO-RÍOS, C. Reproductive failures associated with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. **Veterinary Parasitology**, V. 229, p. 54–59, 2016.

IBGE. Banco de dados Agregados. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/>. Acessado em: 16 de novembro de 2016.

JENKINS, M. C.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 631-636, 2002.

KASHIWAZAKI, Y.; GIANNEECHINI, R. E.; LUST, M.; GIL, J. Seroepidemiology of neosporosis in dairy in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 139-144, 2004.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 2, p. 175-184, 2007.

KING, J. S.; BROWN, G. K.; JENKINS, D. J.; ELLIS, J. T.; FLEMING, P. J.; WINDSOR, P. A.; SLAPETA, J. Oocysts and high seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs living in remote Aboriginal communities and wild dogs in Australia. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 85-92, 2012.

KIRKOVA, Z.; DINEV, I. Morphological changes in the intestine of dogs, experimentally infected with *Trichuris vulpis*. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, p. 239-243, 2005.

KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; ZENIYA, Y.; ETO, M.; YOKOYAMA, R.; TSUTSUI, T.; KIMURA, K.; YAMANE, I. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 175-179, 2006.

LABRUNA, M. B.; PENA, H. F. J.; SOUZA, S. L. J.; PINTER, A.; SILVA, J. C. R. RAGOZO, A. M. A.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p.183-193, 2006.

LASRI, S.; De MEERSCHMAN, F.; RETTIGNER, C.; FOCANT, C.; LOSSON, B. Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 25-32, 2004.

LEAL, P. D. A.; MORAES, M. I. M. R.; BARBOSA, L. L. O.; FIGUEIREDO, L. P.; SILVA, S. L.; LOPES, C. W. G. Parasitos gastrintestinais em cães domiciliados atendidos em serviço de saúde animal, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, s. 1, n. 37-44, 2015.

LINDSAY, D. S. & DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal Veterinary Research**, v. 50, p. 1981-1983, 1989.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327-333, 1999.

LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1521-1523, 1999.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; MACHADO JR, P. C.; FRIDLUND-PLUGGE, N.; RICHARTZ, R. R. T. B.; MONTIANI-FERREIRA, F.; PATRÍCIO, L. F. L.; PATRÍCIO, M. A. C.; JOINEAU, M. G.; PIEPPE, M. Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, s. 1, p. 191-196, 2008.

MADRUGA, C. R. Diagnóstico e epidemiologia do *Trypanossoma (Duttonella) vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n. 1, p. 46-47, 2004.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; CAVALCANTE GOES, G.; MARTINS, C.; PFEIFER, I. B.; RIBEIRO, L. R.; KESSLER, R. H.; SOARES, C. O.; MIGUITA, M.; MELO, E. P.; ALMEIDA, R. F.; LIMA, M. M. JR. The development of a enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 7, p. 801-807, 2006.

MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; GASBARRE, L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: Humoral and cellular immune responses. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1647-1657, 1999.

MARTINS, C. F.; MADRUGA, C. R.; KOLLER, W. W.; ARAUJO, F. R.; SOARES, C. O.; KESSLER, R. H.; MELO, E. S. P.; RIOS, L. R.; ALMEIDA, R. C. F.; LIMA, M. S. C.; BARROS, A. T. M.; MARQUES, L. C. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 51-56, 2008.

MCALLISTER, M. M. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 443-463, 2016.

MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1473-1478, 1998.

MCCARTHY, J.; MOORE, T.A. Emerging helminth zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1351-1359, 2000.

MEHLHORN, H. *Dipylidium caninum*. **Encyclopedia of Parasitology**, p. 1-5, 2015.

MENÃO, M. C.; FARIA, T. L. S. A.; ALMEIDA, J. M. S.; CHIACCHIO, R. G.; ROCHA, A. Pesquisa de infecções parasitárias com potencial zoonótico em animais mantidos em habitações coletivas. **Atas De Saúde Ambiental**, v. 2, n. 1, p. 2-8, 2014.

MONNEY, T.; HEMPHILL, A. Vaccines against neosporosis: what can we learn from the past studies? **Experimental Parasitology**, v. 140, p. 52-70, 2014.

MOURA, A. B.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; BELLATO, V.; TEIXEIRA, E. B. *Neospora caninum* antibodies in dairy cattle of Lages Municipality, Santa Catarina State, Brazil. **Arquivos de Medicina Veterinária**, v.44, n.2, p. 117-122, 2012.

MULLER, N.; ZIMMERMANN, V.; HENTRICH, B.; GOTTSTEIN, B. Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* Infection by PCR and DNA Hybridization Immunoassay. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 11, p. 2850–2852, 1996.

NANTULYA, V. M.; MUSOKE, A. J.; MOLOO, S. K. Apparent exhaustion of the variable antigen repertoires of *Trypanosoma vivax* in infected cattle. **Infection and Immunity**, v. 54, n. 2, p. 444–447, 1986.

NGUI, R.; LEE, S. C.; YAP, N. J.; TAN, T. K.; AIDIL, R. M.; CHUA, K. H.; AZIZ, S.; SULAIMAN, W. Y.; AHMAD, A. F.; MAHMUD, R.; LIAN, Y. L. Gastrointestinal parasites in rural dogs and cats in Selangor and Pahang states in Peninsular Malaysia. **Acta Parasitology**, v. 59, n. 4, p. 737-744, 2014

NICOLETTI, A. Toxocariasis. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 114, p. 217-228, 2013.

NIJSSE, R.; MUGHINI-GRAS, L.; WAGENAAR, J. A.; PLOEGER, H. W. Coprophagy in dogs interferes in the diagnosis of parasitic infections by faecal examination. **Veterinary Parasitology**, v. 204, n. 3-4, p. 304-309, 2014.

NOGUEIRA, C. I.; MESQUITA, L. P.; ABREU, C. C.; NAKAGAKI, K. Y.; SEIXAS, J. N.; BEZERRA, P. S.; ROCHA, C. M.; GUIMARAES, A. M.; PECONICK, A. P.; VARASCHIN, M.S. Risk factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs from urban and rural areas of milk and coffee production in Minas Gerais state, Brazil. **Epidemiology Infection**, v. 141, n. 11, p. 2286-2293, 2013.

O'TOOLE, D.; JEFFREY, M. Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf. **Veterinary Record**, v. 121, p. 563-566, 1987.

OKECH, G.; DOLAN, R. B.; STEVENSON P.; ALUSHULA, H.; WATSON, E. D.; LUCKINS, A. G.; OMUSE, J. K. The effect of trypanosomosis on pregnancy in trypanotolerant Orma Boran cattle. **Theriogenology**, v. 46, n. 3, p. 441-447, 1996.

OLIVEIRA, F.; FAGUNDES, E.; BIAZOTTO, G. NEVES, M. F. Ancilostomíase. **Revista Eletronica de Medicina Veterinária**, ano VI, n. 11, 2008.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2013, Tripanosomosis. Manual dela OIE sobre animales terrestres 2013. Capítulo 2.4.18. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Healthstandards/tahm/2.04.18TRYPANOSOMOSIS.pdf>.

ORLANDO, D. R.; COSTA, R. C.; SOARES, B. A.; OLIVEIRA, N. S. C.; NASCIMENTO, L. C.; PECONICK, A. P.; RAYMUNDO, D. L.; VARASCHIN, M. S. Abortos por *Neospora caninum* em bovinos do sul de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 11, p. 1332-1338, 2013.

ORTEGA-MORA, L. M.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, A.; GÓMEZ-BAUTISTA, M. Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. **Acta Parasitologica**, v. 51, n. 1, p. 1-14, 2006.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; COSTA, S. C. G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology,

epidemiology, pathogenesis and introduction in the New World – A Review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 1, p. 1-13, 2008.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO L.; MORI, A. E.; BRUM, K. B.; BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: Acompanhamento clínico, laboratorial e anátomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2000.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; OSHIRO, E. T.; SALVADOR, S. C.; NAKASATO, L. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6 s. 1, p. 349, 1997.

PANADERO, R.; PAINCEIRA, A.; LÓPEZ, C.; VÁZQUEZ, L.; PAZ, A.; DÍAZ, P.; DACAL, V.; CIENFUEGOS, S.; FERNÁNDEZ, G.; LAGO, N.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONGO, P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). **Research in Veterinary Science**, v. 88, p. 111-115, 2010.

PAOLETTI, B.; TRAVERSA, D.; IORIO, R.; DE BERARDINIS, A.; BARTOLINI, R.; SALINI, R.; DI CESARE, A. Zoonotic parasites in feces and fur of stray and private dogs from Italy. **Parasitology Research**, v. 114, n. 6, p. 2135-2141, 2015.

PARÉ, J.; FECTEU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 11, p. 1595-1598, 1998.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 7, p. 273-275, 1995.

PARÉ, J.; THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. **Journal of Parasitology**, v. 83, p. 82-87, 1997.

PARISCH, S. M.; MAAGOMILLER, L.; BESSER, T. E.; WEINDER, J. P.; MCELWAIN, T.; KNOWLES, D. P.; LEATHERS, C. W. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, p. 1599-600, 1987.

PÉRCOPE, S. Diarreia aguda. **Pediatria moderna**, v. 51, n. 4, 2015.

PEREGRINE, A. S.; MARTIN, S.W.; HOPWOOD, D. A.; DUFFIELD, T. F.; MCEWEN, B.; HOBSON, J. C.; HIETALA, S. K. *Neospora caninum* and *Leptospira* serovar serostatus in dairy cattle in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v. 47, p. 467-470, 2006.

PEREIRA JUNIOR, G.; BARBOSA, P. S. Prevalência de endoparasitas em cães errantes na cidade de Manaus-AM. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 4, n. 2, 2013.

PINTO, L. D.; MARQUES, S. M. T.; BIGATTI, L. E.; ARAUJO, F. A. P. Enteroparasitos de cães: prevalência e conhecimento dos proprietários sobre fatores epidemiológicos. **Veterinária em Foco**, v. 5, n. 1, p. 10-15, 2007.

REGIDOR-CERRILLO, J.; GOMEZ-BAUTISTA, M.; PEREIRA-BUENO, J.; ADURIZ, G.; NAVARRO-LOZANO, V.; RISCO-CASTILLHO, V.; FERNANDEZ-GARCIA, A.; PEDRAZA-DIAZ, S.; ORTEGA-MORA, L. M. Isolation and genetic characterization of *Neospora caninum* from asymptomatic calves in Spain. **Parasitology**, v. 135, p. 1651-1659, 2008.

REICHEL, M. P.; AYANEGUI-ALCÉRRECA, A. M.; GONDIM, L. F.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 133-142, 2013.

REICHERT, F.; PILGER, D.; SCHUSTER, A.; LESSHAFFT, H.; GUEDES DE OLIVEIRA, S.; GNAUTIUS, R.; FELDMEIER, H. Prevalence and Risk Factors of Hookworm-Related Cutaneous Larva Migrans (HrCLM) in a Resource-Poor Community in Manaus, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, 2016.

REITT, K.; HILBE, M.; VOEGTLIN, A.; BORBOZ, L.; HAESSING, M.; POSPISCHIL, A. Aetiology of Bovine Abortion in Switzerland from 1986 to 1995 – A retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 54, p. 15-22, 2007.

RIBEIRO, C. M.; LIMA, D. E.; KATAGIRI, S. Infecções por parasitos gastrintestinais em cães domiciliados e suas implicações na transmissão zoonótica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 2, p. 238-244, 2015.

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bulletin of the United States. **Army Medical Department**, v. 8, p. 326, 1948.

ROBERTSON, I. D.; IRWIN, P. J.; LYMBERY, A. J.; THOMPSON, R. C. A. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.1369-1377, 2000.

ROBSON, J. & ASHKAR, T. S. Trypanosomiasis in domestic livestock in the Lambwe Valley area and a field evaluation of various diagnostic techniques. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 47, p. 727-734, 1972.

ROCHA, J. X.; PIVOTO, F. L.; AIRES, A. R.; ROCHA, R. X.; FERREIRA, A. G. T.; LEAL, M. L. R. Levantamento sorológico de *Neospora caninum* em vacas da raça holandesa da microrregião de Francisco Beltrão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 3, p. 396- 399, 2015.

ROJEKITTIKHUN, W.; CHAISIRI, K.; MAHITTIKORN, A.; PUBAMPEN, S.; SANGUANKIAT, S.; KUSOLSUK, T.; MAIPANICH, W.; UDONSOM, R.; MORI, H. Gastrointestinal parasites of dogs and cats in a refuge in Nakhon Nayok, Thailand. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 45, n. 1, p. 31-39, 2014.

SÁNCHEZ, G. F.; MORALES, S. E.; MARTÍNEZ, M. J.; TRIGO, J. F. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 2, p. 142-145, 2003.

SANTOS, D. S.; ANDRADE, M. P.; VARASCHIN, M. S.; GUIMARAES, A. M.; HIRSH, C. *Neospora caninum* in bovine fetuses of Minas Gerais, Brazil: genetic characteristics of rDNA. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 4, p. 281-288, 2011.

SANTOS, F. A. G.; YAMAMURA, M. H.; VIDOTTO, O.; CAMARGO, P. L. Occurrence of gastrointestinal parasites in dogs (*Canis familiaris*) with acute diarrhea from metropolitan region of Londrina, Parana State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 257-268, 2007.

SCHARES, G.; PANTCHEV, N.; BARUTZI, D.; HEYDORN, A. O.; BAUER, C.; CONRATHS, F. J. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 1525-1537, 2005.

SCHOENARDIE, E. R.; SCAINI, C. J.; BROD, C. S.; PEPE, M. S.; VILLELA, M. M.; MCBRIDE, A. J. A.; BORSUK, S.; BERNE, M. E. A. Seroprevalence of *Toxocara* Infection in Children from Southern Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 99, n. 3, p. 537-539, 2013.

SEIDL, A.; DÁVILA, A. M. R.; SILVA, R. A. M. S. Estimated financial impact of *Trypanosoma vivax* on the Brazilian Pantanal and Bolivian lowlands. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 269-272, 1999.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine Parasitology**, v. 66, n. 1, p. 25-33, 1972.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a floatation technique. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 36, n. 4, p. 266-275, 1923.

SILVA, A. S.; CASTAL, M. M.; POLENZ, M. F.; POLENZ, C. H.; TEIXEIRA, M. M. G.; LOPES, S. T. A.; MONTEIRO, S. G. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2550-2554, 2009.

SILVA, R. A. M. S. Approach on risk factors of bovine trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in the Bolivian and Brazilian Pantanal. **Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 2, p. 153-162, 2006.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDEL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 141pp, 2002.

SILVA, R. A. M. S.; SILVA, J. A.; SCHNEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D.; MESQUITA, T.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.; PEREIRA M. E. B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the

Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 5, p.561-562, 1996.

SILVA, R.A., RAMIREZ, L., SOUZA, S.S., ORTIZ, A.G., PEREIRA, S.R., DAVILA, A.M. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 87–93, 1999.

SILVA, T. M.; OLINDA, R. G.; RODRIGUES, C. M.; CAMARA, A. C.; LOPES, F. C.; COELHO, W. A.; RIBEIRO, M. F.; FREITAS, C. I.; TEIXEIRA, M. M.; BATISTA, J. S. Pathogenesis of reproductive failure induced by *Trypanosoma vivax* in experimentally infected pregnant ewes. **Veterinary Research**, v. 44, n. 1, p. 1-9, 2013.

SOARES, R.; TASCA, T. Giardiasis: an update review on sensitivity and specificity of methods for laboratorial diagnosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 129, p. 98-102, 2016.

SPILOVSKÁ, S.; REITEROVÁ, K.; KOVÁČOVÁ, D.; BOBÁKOVÁ, M.; DUBINSKY, P. The first finding of *Neospora caninum* and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovakia. **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 320-323, 2009.

STALLIVIERE, F. M.; DALLA ROSA, L.; BELLATO, V.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; MOURA, A. B. Helminths intestinais em cães domiciliados e aspectos socioeconômicos e culturais das famílias proprietárias dos animais de Lages, SC, Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, n. 3, p. 22-27, 2013.

STEINMANN, P.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G.; DUD, Z.; MARTI, H.; JIANG, J.; ZHOU, H.; ZHOU, X.; UTZINGER, J. Morphological diversity of *Trichuris* spp. eggs observed during an anthelmintic drug trial in Yunnan, China, and relative performance of parasitologic diagnostic tools. **Acta Tropica**, v. 141, p. 184-189, 2015.

TÁPARO, C. V.; PERRI, S. H. V.; SERRANO, A. C. M.; ISHIZAKI, M. N.; COSTA, T. P.; AMARANTE, A. F. T.; BRESCIANI, K. D. S. Comparação entre técnicas coproparasitológicas no diagnóstico de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2006.

TEIXEIRA, W. C.; UZÊDA, R. S.; GONDIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalência de anticorpos anti *Neospora Caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.9, p. 729-734, 2010.

TELLERIA, R.; BUJAN, M. M.; CERVINI, A. B. Resolución del caso presentado en el número anterior – Larva migrans cutánea. **Archivos Argentinos de Pediatría**, v. 113, n. 4, p. 375-377, 2015.

THILSTED, J. P.; DUBEY, J. P. Neosporosis – like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.1, p. 205-209, 1989.

UECKER, M.; COPETTI, C. E.; POLEZE, L.; FLORES, V. Infecções parasitárias: diagnóstico imunológico de enteroparasitoses. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n. 1, p. 15-19, 2007.

VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R. A. M. S.; TAKEDA, G. F.; BUCK, G. A.; TEIXEIRA, M. M. G. *Trypanosoma vivax*: Characterization of the Spliced-Leader Gene of a Brazilian Stock and Species-Specific Detection by PCR Amplification of an Intergenic Spacer Sequence. **Experimetal Parasitology**, v. 99, p. 37–48, 2001.

WELLS, E. A. Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p.448-449, 1977.

WILLIS, I. I. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Medical Journal of Austrália**, v. 8, p. 375-376, 1921.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A. M. H.; VAN MAANEN, C.; BRINKHOF, J. M. A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal of Parasitology**, v. 29, p.1677–1682, 1999.

YU, X.; CHEN, N.; HU, D.; ZHANG, W.; LI, X.; WANG, B.; KANG, L.; LI, X.; LIU, O.; TIAN, K. Detection of *Neospora caninum* from Farm-Bred Young Blue Foxes (*Alopex lagopus*) in China. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 71, p. 113–115, 2009.

ZAPATA, R.; MESA, J.; MEJÍA, J.; REYES, J.; RÍOS, L. A. Frecuencia de infección por *Trypanosoma* sp. en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en cuatro hatos bufaleros de Barrancabermeja Colombia. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 22, p. 25–32, 2009.

ZOCCAL, R.; CARNEIRO, A. V.; JUNQUEIRA, R.; ZAMAGNO, M. A. **A nova pecuária leiteira brasileira**. III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Recife: CCS Gráfica e Editora, v. 1, p. 85-95, 2008.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 LABIOTEC - LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA
 SETOR DE DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO E
 PARASITOLÓGICO



QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO:

N. Ficha _____ Data ____/____/____

1 - Entrevistado e função:

2 - Proprietário:

3 - Endereço:

4 - Constituição da população humana:

Proprietários

	Homens	Mulheres
<12 anos		
12 – 20 anos		
20 – 40 anos		
40 – 60 anos		
> 60 anos		

6 – Quantos animais há?

	Machos	Fêmeas
<6 meses		
6 – 12 meses		
1 – 2 anos		
2 – 5 anos		
> 5 anos		

6.1 – Qual a raça dos animais? () Holandesa () Jersey () Pardo Suíça () outra

7 – Há cães na propriedade? () sim () não

7.1 – Os cães possuem algum contato com os bovinos? () sim () não

8 – Há gatos na propriedade? () sim () não

8.1 – Os gatos possuem algum contato com os bovinos? () sim () não

9 – Qual o tipo de produção? () intensiva () semi-intensiva () extensiva

10 – Quantos litros de leite é produzido por dia? _____

11 – A reposição de animais é realizada com que frequência na propriedade? () 6 meses () 1 ano () 2 anos

11.1 – São feitos exames como de brucelose antes do animal chegar na propriedade? () sim () não

12 – Já teve ou ainda há casos de aborto na propriedade? () sim () não

12.1 – Qual a frequência de aborto? _____

12.2 – A causa do aborto foi diagnosticada? () sim () não

12.3 – Qual doença? _____

13 – Qual manejo reprodutivo é realizado? () IATF () IA () touro

13.1 – O touro é repostado com qual período? _____

13.2 – É realizado exame andrológico e brucelose antes de adquiri-lo? () sim () não

14 – Todas as fêmeas jovens são vacinas para brucelose? () sim () não

15 – O diagnóstico de brucelose na propriedade é realizado com qual frequência? ()
6 meses () 1 ano () 2 anos

PARA CÃES

18 – O animal foi vacinado quando filhote? () sim () não

18.1 – Qual vacina? () importada () nacional

18.2 - Quem vacinou? () veterinário () agropecuária () próprio dono () outro qual?

19 – O animal é vacinado todo ano? () sim () não

19.1 – Quais vacinas? () raiva () cinomose/parvovirose () outra qual? _____

20 – O animal fica em qual ambiente? () grama () pedra () concreto () terra

21 – Onde o animal fica? () preso por corrente () solto

22 – Os animais já teve presença de vermes nas fezes? () sim () não

23 – O animal é vermifugado com qual frequência? () >3meses () 3-6 meses () 6-
12 meses () >1 anos

24 – O animal já apresentou alguma doença? () sim () não

24.1 – Qual doença? _____

25 – O animal já foi ao veterinário? () sim () não

26 – Qual a alimentação do animal? () ração () comida () polenta () carne crua ()outro _____

27 – O animal já teve problema com pulga? () sim () não

28 – O animal já teve problema com sarna? ()sim ()não

29 – O animal já teve problema com carrapato? () sim () não

PARA HUMANOS

30 – As frutas e verduras são lavadas antes da ingestão? () sim () não

30.1 - Como são lavadas? () água corrente () água sanitária () outro

31 – Qual a fonte da água de consumo? () sanepar ()poço raso () poço artesiano () outro

32 – Há consumo de carne crua ou mal passada? () sim () não